

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Anatomía Patológica



TESIS DOCTORAL

**Análisis descriptivo de la frecuencia de inestabilidad de microsatélites
en el cáncer de endometrio de tipo I de mujeres menores de 60**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Yosmar Carolina Pérez González

Directores

Julián Sanz Ortega
María Jesús Fernández Aceñero

Madrid, 2018



Universidad Complutense de Madrid

Servicio de Anatomía Patológica

Hospital Universitario Clínico San Carlos

Análisis descriptivo de la frecuencia de inestabilidad de microsatélites en el cáncer de endometrio de tipo I de mujeres menores de 60 años

Memoria para optar al grado de doctor presentada por:

Yosmar Carolina Pérez González

Bajo la dirección de los doctores:

Julián Sanz Ortega

María Jesús Fernández Aceñero

Madrid, 2017

D. Julián Sanz Ortega, Doctor en Medicina y Cirugía y Profesor titular de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

Dra. María Jesús Fernández Aceñero, Doctora en Medicina y Cirugía y Profesora asociada de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN: Que Dña. Yosmar Carolina Pérez Gonzalez, Licenciada en Medicina y Cirugía, Especialista en Anatomía Patológica, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo de investigación titulado “**Análisis descriptivo de la frecuencia de inestabilidad de microsatélites en el cáncer de endometrio de tipo I de mujeres menores de 60 años**”, dando nuestra conformidad para su presentación y defensa como Tesis Doctoral, tras examinar y revisar los contenidos del mismo.

Fdo: Dr. Julián Sanz Ortega

Fdo: Dra. María Jesús Fernández Aceñero

DEDICATORIA

A **Hernan Dario Ramirez Real** y **Maria Fernanda Ramirez Pérez** por acompañarme en el día a día y ser mi apoyo incondicional.

A mis padres, **Yolanda de Pérez** y **Roberto Pérez**, por traerme a este mundo, saberme guiar y orientar, apoyarme en mis decisiones, acompañarme en mis penas y alegrías, saberme levantar en momentos de tristezas, por estar siempre en el momento y lugar indicado cuando los he necesitado, y por estar aquí conmigo una vez más cerrando una etapa de mi vida, que es apenas el comienzo de un largo camino. Estaré eternamente agradecida y orgullosa de tener unos padres como ustedes y trataré siempre de poder superar sus logros.

A mi hermano, **Roberto Pérez** por caminar fielmente a mi lado durante todos sus años de vida, por estar siempre muy cerca, apoyándose y esperando en silencio que necesite algo para extender su mano, por ir avanzando conmigo, poco a poco y lentamente e ir alcanzando sus metas siempre cerca de mí.

A mis **abuelos, tíos y padrinos** por entenderme, respetar mis decisiones y apoyarme en todas y cada una de ellas.

A todas aquellas que no pude nombrar y que de alguna manera han tocado mi vida y me han ayudado a escribir mi libro de vida.

Yosmar Pérez

Agradecimientos

Al Doctor **Julián Sanz Ortega** y la **Dra. María Jesús Fernández Aceñero**, por creer en mis capacidades, por la paciencia, por la confianza que depositaron en mí y por haberme asesorado en la realización de este trabajo de investigación.

A la **Universidad Complutense de Madrid** por ser mi casa de estudio, brindándome la oportunidad de superarme y poder alcanzar mis metas.

A los **Servicios de Anatomía Patológica** de los Hospitales Universitario Clínico San Carlos y Universitario de Móstoles.

Al **Hospital Universitario de Móstoles** por ser mi lugar de formación y por haber colaborado en la realización de mi tesis.

Índice de contenidos

DEDICATORIA ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

AGRADECIMIENTOS _____ **VII**

ÍNDICE DE TABLAS _____ **XV**

ÍNDICE DE FIGURAS _____ **XVII**

ABREVIATURAS _____ **XIX**

RESUMEN _____ **XXIII**

ABSTRACT _____ **XXVII**

1. INTRODUCCIÓN _____ **1**

1.1. Cáncer de endometrio _____ **7**

1.1.1. Definición, epidemiología y características clínicas generales _____ **7**

1.1.2. Características patológicas _____ **11**

1.1.3. Variantes y otros tipos histológicos _____ **14**

1.1.4. Citología _____ **23**

1.1.5. Histoquímica y hallazgos inmunohistoquímicos _____ **28**

1.1.6. Características genéticas moleculares _____ **35**

1.1.7. Diseminación y metástasis _____	35
1.1.8. Coexistencia del carcinoma uterino y otros carcinomas del tracto genital _	45
1.1.9. Tratamiento _____	46
1.1.10. Factores pronósticos _____	48
1.2. Síndrome de Lynch _____	511
1.2.1. Definición _____	51
1.2.2. Manifestaciones clínicas _____	52
1.2.3. Cáncer extracolónico _____	544
1.2.4. Síndrome de Muir-Torre y de Turcot como variantes del síndrome _____	55
1.2.5. Genética _____	55
1.2.6. Inmunohistoquímica y síndrome de Lynch _____	59
1.2.7. Identificación de individuos con síndrome de Lynch _____	60
2. Hipotesis y Objetivos _____	65
2.1. Hipotesis _____	67
2.2. Objetivo general _____	67
2.3. Objetivos específicos _____	67

3. MATERIAL Y MÉTODOS	69
3.1. Tipo y diseño del estudio	71
3.1.1. Selección de casos	71
3.1.2. Criterios de inclusión	71
3.1.3. Criterios de exclusión	71
3.2. Muestras tisulares	72
3.2.1. Selección de casos	72
3.2.2. Selección de controles	72
3.3. Procedimientos de recogida de datos	73
3.3.1. Aspectos clínicos	73
3.3.2. Aspectos anatomopatológicos	73
3.3.3. Aspectos de inmunohistoquímica	75
3.3.4. Aspectos moleculares	78
3.3.4.1. Selección del material	78
3.3.4.2. Diseño del TMA	78
3.3.4.3. Selección del bloque donante	79

3.3.4.4. Reconstrucción de los bloques donantes _____	79
3.3.4.5. Selección de la zona a pinchar en el bloque donante _____	79
3.3.4.6. Preparación del bloque receptor _____	79
3.3.4.7. Construcción de la matriz _____	80
3.3.4.8. Corte de los TMA _____	81
3.3.4.9 Almacenamiento de los cortes _____	81
3.3.5. Almacenamiento de datos _____	82
3.4. Realización de la PCR en los casos con perdida de la expresión de genes reparadores del ADN _____	82
3.4.1. Manejo de la muestra y extracción del ADN _____	82
3.4.2. Cuantificación del ADN, valoración de la calidad del ADN y secuenciación en tiempo real _____	83
3.5. Análisis estadístico _____	87
3.6. Aspectos éticos _____	88
4. RESULTADOS _____	89
4.1. Analisis descriptivo _____	91
4.1.1.Datos demográficos _____	91

4.1.2. Datos anatomopatológicos	91
4.1.3. Datos inmunohistoquímicos	92
4.1.4. Datos moleculares	92
4.2. Análisis de asociación	93
4.2.1. Analisis relacionado con la expresión de proteínas reparadoras	93
4.2.1.1. Pérdida de proteínas reparadoras vs edad	93
4.2.1.2. Pérdida de proteínas reparadoras vs celularidad inflamatoria	94
4.2.1.3. Pérdida de proteínas reparadores vs antecedentes personales	975
4.2.1.4. Pérdida de proteínas reparadoras vs gradación histológica de la FIGO	95
4.2.2. Analisis relacionado con la presencia de inflamación	97
4.2.2.1. Celularidad inflamatoria vs gradación histológica de la FIGO	97
4.2.2.2. Celularidad inflamatoria vs edad	98
5. DISCUSIÓN	99
5.1. Aspectos relacionados con la expresión de proteínas reparadoras	101
5.1.1. Pérdida de proteínas reparadoras vs edad	101

5.1.2. Pérdida de proteínas reparadoras vs celularidad inflamatoria	94
5.1.3. Pérdida de proteínas reparadores vs antecedentes personales	105
5.1.4. Pérdida de proteínas reparadoras vs gradación histológica de la FIGO	107
5.2. Aspectos relacionados con la presencia de inflamación	110
5.2.1. Celularidad inflamatoria vs gradación histológica de la FIGO	110
5.2.2. Celularidad inflamatoria vs edad	98
6. CONCLUSIONES	115
7. BIBLIOGRAFÍA	119

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Positividad/ negatividad de marcadores de IHQ para el CE Tipo I y II. ____	30
Tabla 2. Características esenciales de los grados histológicos del CE según la FIGO. ____	74
Tabla 3. Pérdida de proteínas reparadoras según edad de las pacientes. _____	93
Tabla 4. Pérdida de proteínas reparadoras según la presencia/ ausencia de LIT ____	94
Tabla 5. Pérdida de proteínas reparadoras según la presencia de antecedentes personales de CE. _____	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 6. Pérdida de proteínas reparadoras según la gradación histológica del sistema FIGO. _____	96
Tabla 7. Presencia de LIT según la gradación histológica del sistema FIGO. _____	97
Tabla 8. Celularidad inflamatoria según edad de las pacientes. _____	98
Tabla 9. Resumen de resultados de estudios publicados sobre la relación entre la perdida de proteínas reparadoras y las pacientes > 50 años de edad. _____	101
Tabla 10. Resumen de resultados de antecedentes sobre la relación entre la perdida de proteínas reparadoras y la presencia de LIT (celularidad inflamatoria). _____	103
Tabla 11. Resumen de resultados de antecedentes sobre la ausencia de relación entre la presencia de antecedentes personales de CE y el diagnóstico de perdida de expresión de las proteínas reparadoras _____	105

Tabla 12. Resumen de resultados de antecedentes sobre la relaciones entre los CE Tipo II y el diagnóstico de perdida de expresión de las proteínas reparadoras y la falta de asociación directamente proporcional entre el segundo y el sistema de gradación de la FIGO. _____ 108

Tabla 13. Resumen de resultados de antecedentes sobre la relación entre la presencia de LIT (celularidad inflamatoria) y los CE grado 2 (según la FIGO) asociados a la perdida de expresión de proteínas reparadoras _____ 110

Tabla 14. Resumen de resultados de antecedentes sobre la falta de relación significativa entre la presencia/ ausencia de LIT y la edad de las pacientes con CE. _____ 113

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. (A y B) Patrones de protrusión irregular asociados con proyecciones pequeñas irregulares en los bordes de los grumos celulares. (C y D) Patrones papilotubulares. En el primero, la glándula endometrial muestra un patrón de crecimiento papilar con ramificaciones y proyecciones irregulares. En el segundo, se halla formación de un amplio espacio glandular y estructuras *adosadas*, con un adicional patrón cribriforme.²⁷

Figura 2. Resultados de IHQ para adenocarcinoma endometriode asociados a la positividad de receptores de estrógenos (A), bajo índice de Ki-67 (B) y negatividad de la proteína p53 (C). _____ 33

Figura 3. Resultados de IHQ para CE Tipo II asociados a la positividad de la proteína p53 (A), alto índice de Ki-67 (B) y negatividad de receptores de estrógenos (C). ____ 34

Abreviaturas

ACE	Antígeno carcinoembrionario
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFP	Alfa-fetoproteína
Ag	Antígeno
CALR	Calretinina
CCR	Cáncer colorrectal
CDX-2	Proteína caudal homeobox 2
CE	Cáncer o carcinoma de endometrio
CG	Cromogranina
CK	Citoqueratina
CMF	Citometría de flujo
COX-2	Ciclooxigenasa-2
CV	Calidad de vida
C-V	Cérvico-vaginal
DCC	Gen deletado en el carcinoma de colon
DHPLC	Cromatografía líquida desnaturalizante de alto rendimiento
DIU	Dispositivo intrauterino
DM	Diabetes mellitus
VEB	Virus de Epstein-Barr
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
PAF	Poliposis adenomatosa familiar
FDR	<i>False Discovery Rate</i>
FIGO	<i>Federation of Gynaecology and Obstetrics</i>
GLU-1	Transportador de glucosa

h-CALD	h-Caldesmón
hCG	Gonadotropina coriónica humana
H-E	Hematoxilina-eosina
HNPCC	Cáncer colorrectal hereditario no polipósico
IHQ	Inmunohistoquímica
LBP	Preparación en base líquida
LSAB	<i>Estreptavidina-biotina marcada</i>
IMC	Índice de masa corporal
LSE	Lupus sistémico eritematoso
Melan-A	Antígeno específico del melanoma
MLH1	Homólogo 1 del mutL
MLH3	Homólogo 3 del mutL
MMR	Reparación de los errores de apareamiento
MSH2	Homólogo 2 del mutS
MSH6	Homólogo 6 del mutS
IMS	Inestabilidad de microsatélites
IMS-H	Alta inestabilidad de microsatélites
IMS-L	Baja inestabilidad de microsatélites
NSE	Enolasa específica neuronal
OMS	Organización Mundial de la Salud
SG	Supervivencia global
PCK	Pan-citoqueratina
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PLAP	Fosfatasa alcalina placentaria
PMS1	Segregación posmeiótica 1
PMS2	Segregación posmeiótica 2

PTEN	Homólogo de fosfatasa y tensina
SNC	Sistema nervioso central
SOP	Síndrome de ovario poliquístico
LIT	Linfocitos infiltrantes del tumor
TMA	Micromatriz tisular
VPP	Valor predictivo positivo
WT1	Gen del tumor de Wilms

RESUMEN

Introducción. La inestabilidad de microsatélites (IMS) representa la principal anomalía genética detectada en el cáncer de endometrio (CE) y su frecuencia se incrementa cuando este adenocarcinoma se asocia al síndrome de Lynch. Actualmente existen controversias en cuanto al diagnóstico de este síndrome en pacientes con CE, así como de la detección de IMS.

Objetivo. Determinar la presencia de inestabilidad de microsatélites (IMS) en mujeres menores de 60 años con cáncer de endometrio (CE), asociado o no al síndrome de Lynch y diagnosticadas en el período comprendido entre enero de 1990 y diciembre del 2012 en el Hospital Universitario de Móstoles, Madrid, España.

Material y métodos. Se realizó un estudio longitudinal retrospectivo sobre una serie de 119 pacientes con adenocarcinoma de endometrio, menores de 60 años al momento del diagnóstico. Estas muestras fueron remitidas al Servicio de Anatomía Patológica, procedentes del Servicio de Ginecología, fijadas en formol tamponado al 4% e incluidas en parafina. También se incluyeron controles, que se correspondieron con tejidos de características histológicas habituales. Se recogió la información sobre los aspectos clínicos, anatomopatológicos, inmunohistoquímicos y moleculares. Para valorar la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos se construyó una micromatriz de tejidos con material de los tumores. Posteriormente se confirmó con técnica de PCR la inestabilidad de microsatélites en todos los casos en los que había pérdida de expresión de las proteínas reparadoras por técnicas de inmunohistoquímica. El análisis estadístico incluyó: 1) una fase descriptiva con medias y desviación estándar para las variables

cuantitativas ajustadas a la normalidad o mediana y rango para las no normales y porcentajes para las variables cualitativas; y 2) una fase analítica para determinar la posible asociación entre las variables del estudio, en la que se empleó la χ^2 de Pearson o la prueba exacta de Fisher, según indicación. Las diferencias de expresión en los distintos marcadores moleculares entre dos grupos se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

Resultados. Todas las muestras que presentaron pérdida de expresión de las proteínas reparadoras del ADN por técnicas de inmunohistoquímica presentaron inestabilidad de microsatélites valoradas por PCR.

La pérdida de expresión de las proteínas reparadoras se asoció significativamente a la edad de las pacientes, siendo más frecuentes entre las que superaban 50 años. La pérdida de expresión de las proteínas reparadoras se asoció también a la presencia de LIT. Dentro del grupo de pacientes con celularidad inflamatoria, fue mayor la frecuencia de carcinomas endometrioides grado 2, aunque no se demostró una relación directamente proporcional a la gradación de FIGO. No se demostró asociación entre los antecedentes familiares de CE y la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras. Aunque la pérdida de proteínas reparadoras del ADN fue significativamente más frecuente en casos de carcinomas endometrioides grado 2, no se demostró asociación entre la ausencia/ presencia de expresión proteica y los grados histológicos del CE. La presencia/ ausencia de celularidad inflamatoria no se asoció significativamente con la edad de las pacientes, aunque este hecho se puede explicar porque la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras fue significativamente más frecuente en las pacientes > 50 años.

Conclusiones. De todas las muestras evaluadas, solo el 18% de los casos presentaron pérdida de expresión proteica de las proteínas reparadoras del ADN. El 100% de ellas presentó inestabilidad de microsatélites en la PCR. Se recomienda la sistematización e implementación de una estrategia diagnóstica constituida por 4 ejes: el clínico, el IHQ, el genético y el de abordaje multidisciplinario de los casos con sospecha de síndrome de Lynch.

Palabras clave: Cáncer de endometrio, Inestabilidad de microsatélites, Síndrome de Lynch, Inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Introduction: Microsatellite instability (MSI) is the main genetic disorder detected in endometrial cancer (EC), and is even more frequent when this adenocarcinoma is associated with Lynch syndrome. Currently, there is controversy regarding diagnosis in EC patients, as well as MSI detection.

Objective: To determine MSI in women under 60 with EC, associated or not with Lynch syndrome, and diagnosed at Móstoles University Hospital in Madrid, Spain, between January 1990 and December 2012.

Material and methods: A longitudinal retrospective study was carried out, including 119 samples of malignant endometrial lesions from 119 female patients, all under 60 at diagnosis. Following biopsy, these samples were submitted from the Gynecology Department to the Anatomic Pathology Department, fixed in 4% buffered formalin and embedded in paraffin. Controls with ordinary histological characteristics were used. For the aim of the present study we gathered clinical, pathological, immunohistochemical and molecular data, with a special focus on tissue matrices. To evaluate immunohistochemical expression we constructed a tissue microarray (TMA) with tumor samples. Last we performed PCR analysis of the samples with loss of mismatch repair protein expression to confirm molecular abnormalities in these cases. Statistical analysis included: 1) a descriptive phase with mean and standard deviation for normal quantitative variables and median and range for non-normal ones and percentages for qualitative variables; and 2) a analytical phase to test association between the variables with Pearson's chi squared and exact test when indicated. Differences in the various

molecular markers between groups were considered as statistically significant when $p < 0.05$.

Results: DNA-repair protein loss cases were significantly associated with patients over 50 and presence of TILs. In the inflammatory cellularity patient group, grade 2 endometrioid adenocarcinoma was more frequent, although we found no proportional relationship to FIGO staging system. Familial history of EC did not affect positivity in DNA-repairing protein loss diagnosis significantly. Although DNA-repair protein loss was considerably more frequent in grade 2 endometrioid carcinomas, our study could not show any directly proportional relationship between protein absence/presence and EC grades 1, 2 and 3. The presence/absence of inflammatory cellularity was not significantly associated with patient age, but it can be inferred that within Lynch syndrome positive cases, the number of patients over 50 was considerably higher.

Conclusions: Of all samples assessed only 18% presented with IMS. The systematization and implementation of a quadruple diagnostic strategy is recommended, including the clinical, IHC, and genetic aspects, and the cross-disciplinary management of cases with presumptive Lynch syndrome –with a special focus on the patient’s genetic history.

1. INTRODUCCIÓN

La salud fue definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1946 como “... el completo estado de bienestar físico, mental y social y no la mera ausencia de enfermedad” (1:1) y se trata de un derecho fundamental de todo ser humano, un requisito indispensable para garantizar el desarrollo cultural, social y económico. La salud viene condicionada por determinados factores, en gran parte relacionados con condiciones ambientales y estilos de vida. A partir de estas nociones derivan las acciones dirigidas a garantizarla.

De acuerdo con Gaviria *et al.* (2:52), el cáncer puede ser conceptualizado como

... un conjunto de enfermedades caracterizadas por la presencia de nuevas células que crecen y se extienden sin control. La característica más peligrosa de las células tumorales es su autonomía, en otras palabras, su capacidad de crecer sin tener en cuenta las necesidades de otras células del organismo y sin someterse a las limitaciones de crecimiento que gobiernan otras células.

De acuerdo con Boyle y Levin (3), la mortalidad asociada al cáncer representa aproximadamente 1/8 de todas las causas de muerte. Las estimaciones para el 2004 indican un total de 58,8 millones de muertes debidas al cáncer en todo el mundo, cantidad que, según la edad, se distribuye en los siguientes porcentajes principales: 50% < 60 años, 37% ≥ 70 años y 18% ≥ 80 años. Además, se estimó una muerte por cáncer de cada 5 en niños menores de 5 años.

Sin embargo, las estimaciones asumen que esta mortalidad es superior, dado que algunas muertes se atribuyen a las comorbilidades generadas de forma directa por el cáncer.

Por su parte, para el 2008 se ha estimado una prevalencia global de cáncer de 28,8 millones, siendo ligeramente superior en hombres y aproximadamente el 50% se producirán en áreas de muy elevado desarrollo humano (1/6 de la población mundial total). De acuerdo a la localización y tipo de cáncer, el de pulmón y mama representan los cánceres con mayor prevalencia en la gran mayoría de países; el de cuello uterino, en África Subsahariana y Asia del Sur; el de próstata, en EE.UU., Oceanía y norte y este de Europa; de estómago en Asia Oriental (incluyendo China); y el de cavidad oral, en India (4).

Considerando que actualmente se hace referencia a un incremento significativo del riesgo de cáncer en todo el mundo, se reconoce que la edad y el crecimiento demográfico representan los principales factores para tal riesgo en países de bajos a medios ingresos, a lo que debe sumarse la occidentalización del estilo de vida (principalmente, sedentarismo, aumento del peso corporal y obesidad), cambios sociológicos [por ejemplo, mayor edad en el primer parto y reducción de la cantidad de hijos por familia –asociado a un mayor riesgo de cáncer de mama y colorrectal (CCR)] y el incremento en el hábito del tabaquismo (3).

A nivel general, los principales cánceres, según su localización, son los siguientes (3): cánceres de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de vesícula, CCR, carcinoma nasofaríngeo, sarcoma de

Kaposi, cáncer de pulmón, mesotelioma, cáncer de piel distinto del melanoma, melanoma cutáneo, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer ovárico, cáncer de endometrio (CE), cáncer testicular, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, tumores del sistema nervioso, linfomas y leucemias. Concretamente entre las mujeres, los cánceres más frecuentes son, ordenados de mayor a menor incidencia: cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de pulmón, CCR y cáncer de cuerpo uterino (incluyendo el CE).

Respecto del CE, objeto del presente estudio, este ocupa el primer lugar entre los tumores genitales femeninos. Su incidencia en el mundo occidental es de 17 casos/100.000 habitantes y año, siendo su tasa de mortalidad aproximada de 1,7-2,4 casos/100.000 habitantes y año. La mayoría de los casos se diagnostican en mujeres posmenopáusicas de 55-65 años y solo un 25% afectan a mujeres premenopáusicas (un 5% en mujeres < 40 años). Las muertes estimadas por CE son 3% en EE.UU. para el año 2010, ubicándose en el octavo lugar después del cáncer de pulmón, mama, colon, páncreas, ovario, linfoma no Hodgkin y leucemias. En el año 2011 se diagnosticaron aproximadamente 46.470 casos nuevos y se produjeron 8120 muertes (5-7).

El principal factor de riesgo es la obesidad, que puede explicar más de 40% de la incidencia del mismo. Los hábitos dietéticos y el nivel de actividad física influyen sobre el riesgo del CE, lo que se explica por las relaciones entre el ingreso y gasto de energía y el peso corporal. Por su parte, el uso de anticonceptivos orales se ha asociado con la reducción del riesgo. Complementariamente a ello, la etiología del CE se ha asociado con la hipótesis de estrógenos sin oposición (exposición de largo plazo a relativamente

elevados niveles de estrógenos no compensados por la presencia de progesterona) (8-12).

Aunque la gran mayoría de los casos son diagnosticados en etapas tempranas, se sabe que existe un subgrupo que presenta una alta probabilidad de recidiva y que incluye candidatas a terapias adyuvantes (13-17).

Por su parte, el síndrome de Lynch, también denominado carcinoma o cáncer colorrectal hereditario no polipósico (HNPCC), se define por una mayor susceptibilidad de padecer cáncer debido a una mutación autosómica dominante de un gen que en condiciones normales repara el ácido desoxirribonucleico (ADN). Aunque la mayoría de las personas que presentan el síndrome de Lynch tienen un riesgo aumentado de parecer CCR, estudios recientes han reportado que las mujeres con este síndrome presentan un riesgo del 40-60% para padecer CE durante toda la vida (18-22).

Además, la inestabilidad de microsatélites (IMS) representa la principal anomalía genética detectada en el CE, frecuencia que se incrementa cuando este adenocarcinoma se asocia al síndrome de Lynch (23, 24).

Estas asociaciones epidemiológicas son la base para fundamentar el presente estudio orientado a estimar la frecuencia del CE asociado a pérdida de proteínas reparadoras y el establecimiento de criterios adecuados para realizar técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) que permitan determinar la IMS de forma rutinaria, todo ello con el fin de diagnosticar de forma precoz el CE e incrementar las probabilidades de brindar una mejor calidad de vida (CV) a estos pacientes.

1.1. Cáncer de endometrio

1.1.1. Definición, epidemiología y características clínicas generales

El CE se define como un tumor epitelial maligno que se origina en el endometrio. La mayoría de los carcinomas de endometrio son adenocarcinomas y el tipo más común es el adenocarcinoma endometriode. El CE es el tumor ginecológico maligno más frecuente en muchos países. Sus tasas de incidencia más altas se encuentran en EE.UU. y Canadá, ubicándose por debajo del cáncer de mama, de intestino y de pulmón (39, 40).

Desde una perspectiva general, el CE es más común en mujeres de mayor edad, de raza blanca, de buen nivel económico, obesas y de baja paridad (40). Desde una perspectiva epidemiológica específica, primero cabe realizar algunas aclaraciones sobre la heterogeneidad tumoral asociada al CE, dado que ello podría afectar las asociaciones epidemiológicas.

Al respecto, el CE es heterogéneo desde un punto de vista histopatológico. Aunque con frecuencia se incluyan dentro de la amplia categoría de cánceres del cuerpo uterino, no debemos considerar en esta categoría los sarcomas originados en el estroma endometrial o en el músculo liso del útero (41). Como prácticamente la totalidad de los cánceres del cuerpo uterino son adenocarcinomas, la taxonomía del CE principalmente refiere a la clasificación de los mismos. Así, se hace referencia al CE endometriode o tipo I, que representa casi el 80% de los casos, y el tipo II, que incluye los carcinomas adenoescamosos, adenoacantoma, carcinoma seroso capilar, mucinoso, de células

claras, de células escamosas, mixtos y no definidos (40, 42, 43). En este sentido, la mayor parte de los estudios epidemiológicos sobre el CE hacen referencia al tipo I.

En este sentido, a continuación se puntualiza en diversos aspectos epidemiológicos específicos del CE (41):

- Distribución geográfica
 - En EE.UU., el CE es el cáncer ginecológico más común, con 40.100 casos nuevos y 7470 muertes en 2008 (44).
 - Las mayores tasas de prevalencia del CE se presentan en países industrializados y de Europa del norte, mientras que las más bajas se corresponden con las naciones de tercer mundo (45).
- Distribución etaria
 - La incidencia se incrementa de manera brusca durante los años perimenopáusicos, llegando a su pico tras la menopausia.
 - Las tasas de incidencia decaen pasados los 70 años.
 - Se estima que la tasa general del CE es un 33% mayor para las mujeres que no se sometieron a procedimientos de histerectomía o histerectomía y ooforectomía, aunque ello depende de la edad (46, 47).
- Historia menstrual y reproductiva.
 - El riesgo de CE disminuye con:
 - Edad avanzada de la menarquia (48, 49).
 - Edad temprana en el primer parto (49-51).
 - Edad avanzada en el último parto (52-54).
 - Elevada paridad (48, 50, 52, 53, 55).

- Período de lactancia prolongado (56-58).
 - Uso prolongado de una combinación de anticonceptivos orales, excepto los secuenciales (estrógenos dominantes) (59-62).
 - Uso del dispositivo intrauterino (DIU) (63-65).
 - Ligadura de trompas (66-68).
- El riesgo de CE aumenta con:
 - Ciclos irregulares y cortos (48).
 - Edad avanzada de comienzo de la menopausia (49, 51, 52).
 - Uso de hormonas en la menopausia, sobre todo estrógenos no contrarrestados por progesterona (69-73).
- Antecedentes médicos:
 - El índice de masa corporal (IMC) elevado incrementa el riesgo del CE tipo I. Este factor se relaciona con el incremento de las concentraciones de estrógenos, sobre todo en mujeres posmenopáusicas en las que el tejido adiposo es el principal sitio de producción de tal hormona a partir de precursores de andrógenos (74-80).
 - El síndrome del ovario poliquístico (SOP) también se asocia con un incremento del riesgo de CE porque provoca hiperandrogenismo ovárico, anovulación crónica y deficiencia de progesterona (81-83).
 - Los antecedentes de fracturas óseas podrían reducir el riesgo de CE como reflejo de un estado hipoestrogénico a largo plazo (84, 85).
 - El lupus eritematoso sistémico (LES) podría reducir el riesgo de CE (86-88).
- Hábitos y factores ambientales:

- El hábito actual de tabaquismo se asocia a una reducción del riesgo de CE, sobre todo en mujeres posmenopáusicas, lo que se puede explicar por sus efectos antiestrogénicos (por ejemplo, reducción del peso corporal, menor edad al momento de la menopausia y alteraciones del metabolismo de los estrógenos) (89-94).
- El uso de talco se ha asociado a un incremento del riesgo de CE (95, 96).
- El aumento del ejercicio y la actividad física reducen el riesgo de CE (97-100).

En cuanto a los signos y síntomas, el CE usualmente se manifiesta con (40, 101):

- Sangrado uterino anómalo, síntoma que se presenta en aproximadamente el 90% de las pacientes y que cursa como menometrorragia en mujeres perimenopáusicas y como sangrado similar a la menstruación en aquellas posmenopáusicas.

En relación con esto último, las mujeres perimenopáusicas suelen describir un sangrado intermenstrual, una duración de la menstruación mayor a 7 días y un menor intervalo entre menstruaciones.

Por eso, las mujeres que presentan un sangrado intenso y prolongado y tienen riesgo de ciclos anovulatorios deben remitirse para un examen histológico del endometrio.

- Dolor pélvico y hematómetra asociada a estenosis cervical en mujeres de avanzada edad con deficiencia de estrógenos durante muchos años. Es importante recordar que un 35% de las pacientes con CE no tienen obesidad ni

hiperestrogenismo, pese a que el aumento del peso corporal, la diabetes mellitus (DM) y la menopausia tardía representan factores de riesgo comunes para el CE.

La exploración abdominal suele ser normal, mientras que la pélvica solo indica en general un sangrado vaginal leve. Al respecto, debe examinarse con detalle posibles lesiones palpables de la vulva, la vagina y/o el cuello del útero, así como debe realizarse una biopsia para descartar enfermedades metastásicas u otras causas del sangrado vaginal.

Particularmente, la exploración clínica debe centrarse en el tamaño, contorno, movilidad y posición del útero, datos que serán de gran utilidad para determinar el riesgo de complicaciones y de enfermedad localmente avanzada o metastásica, ello conjuntamente con pruebas diagnósticas como la biopsia. Esto es de gran importancia ya que el CE puede ser producto de un tumor ovárico secretor de estrógenos coexistente.

1.1.2. Características patológicas

A grandes rasgos, el CE puede adoptar dos formas de crecimiento: como masas polipoideas de base amplia o como un crecimiento difuso infiltrativo hacia el miometrio. En general, la invasión miometrial extensa se asocia a un aumento de tamaño uterino clínicamente detectable (102-105). Sin embargo, existen excepciones; a veces, la extensión miometrial profunda va acompañada de un útero de tamaño normal y el patrón de crecimiento es similar al de un adenoma del cuello uterino. Este patrón también ha sido descrito como “mínima desviación invasiva” (106).

El CE puede desarrollarse en cualquier región anatómica de la mucosa. Los tumores en las mujeres jóvenes tienen una mayor tendencia a involucrar el segmento uterino inferior (istmo), mientras que en las mujeres mayores tiende a ubicarse en el fondo uterino (104).

Microscópicamente, casi el 80% de tumores epiteliales malignos del endometrio son adenocarcinomas convencionales de tipo endometriode (por su parecido a la mucosa endometrial normal). Esta lesión se suele gradar siguiendo los criterios de la *Federation of Gynaecology and Obstetrics* (FIGO), que se basa principalmente en el patrón de crecimiento (proporción de áreas glandulares y sólidas), pero también considera la atipia nuclear. Normalmente se reconocen tres grados: bien diferenciado (grado 1, 50%), moderadamente diferenciado (grado 2, 35%) y pobremente diferenciado (grado 3, 15%) (40, 42, 43). Se ha propuesto un sistema alternativo de dos grados (bajo y alto grado), que se basa principalmente en criterios arquitectónicos (107-109).

Más del 25% de los adenocarcinomas endometrioides tienen focos de diferenciación papilar o villopapilar, ya sea en su superficie o en el área de invasión. Estos tumores deben ser distinguidos de los carcinomas serosos papilares, que son muchos más agresivos (104). Otra posibilidad es que un adenocarcinoma endometrial contenga pequeñas papilas no vellosas. Estas papilas pueden originarse sobre un adenocarcinoma endometriode o de las proyecciones villosas de una variante villoglandular (110, 111).

También debe destacarse que la porción más superficial del adenocarcinoma de endometrio puede simular condiciones de hiperplasia o metaplasia de la mucosa endometrial. El epitelio luminal glandular puede contener detritos de células de un

modo similar al que se encuentra en el CCR y conocido coloquialmente como “necrosis sucia”. Esos detritos se asocian a histología de alto grado, invasión miometrial y extensión al istmo (112-114).

El estroma del adenocarcinoma de endometrio suele tener diferenciación desmoplásica, aunque muchas veces este está completamente ausente, incluso ante la presencia de un tumor difuso infiltrativo. Pueden reconocerse células espumosas debido a la presencia de necrosis tumoral y su presencia es un buen marcador de carcinoma; sin embargo, estas células también se pueden observar en casos de hiperplasia e incluso en ausencia de cambios epiteliales proliferativos (104, 115, 116).

El endometrio no neoplásico de un útero portador de un adenocarcinoma de endometrio por lo general muestra cambios hiperplásicos y, solo excepcionalmente, cambios proliferativos o secretores. Cuando esto ocurre se dice que el adenocarcinoma se originó de un área de mucosa refractaria a progesterona (104, 105).

La frecuencia y grado de invasión miometrial está directamente relacionada con el grado histológico del tumor. Los tumores de alto grado también tienen mayor riesgo de afectación cervical e invasión linfovascular (117, 118). Se debe tener especial cuidado con distinguir la verdadera invasión miometrial de la adenomiosis. Esta último se diferencia de la infiltración por la presencia de estroma endometrial alrededor de las zonas de proliferación glandular miometrial. Se ha propuesto el uso de CD10 para diferenciar ambas entidades, ya que esta técnica de IHQ pone en evidencia el estroma endometrial en el caso de la adenomiosis (119-121).

1.1.3. Variantes y otros tipos histológicos

Como se mencionara a lo largo de este trabajo, se pueden identificar dos tipos de CE en general. El primero, más común y mejor estudiado, aparece sobre un fondo de estimulación estrogénica prolongada y de hiperplasia endometrial. Por su parte, el segundo aparece en mujeres de edad más avanzada, sin estigmas de hiperestimulación estrogénica o hiperplasia endometrial y suelen ser tumores menos diferenciados con peor pronóstico que aparecen de novo (40, 42, 43).

Las pacientes con alto riesgo en la primera categoría incluyen obesas, diabéticas, hipertensas, con problemas de infertilidad, aquellas con fallo en la ovulación, incluidas las que presentan el síndrome de Stein-Leventhal, sangrados disfuncionales, usuarias de estrógenos, pacientes con cáncer de mama en tratamiento con tamoxifeno, aquellas con diversos estadios de hiperplasia endometrial y aquellas con tumores funcionales de células de la granulosa o tecomas (10, 122).

La mayoría de las pacientes con el síndrome de Stein-Leventhal presentan hiperplasia de endometrio que suele revertir con tratamiento médico (123, 124). La disgenesia gonadal también puede asociarse al adenocarcinoma de endometrio, usualmente del tipo bien diferenciado (125).

El adenocarcinoma de endometrio se ha vinculado también con el HNPCC. Los pacientes con este síndrome tienen un riesgo aumentado de padecer adenocarcinoma de endometrio con aparición en edades más tempranas. La mayoría de estos tumores son del tipo no endometriode y de alto grado; suelen mostrar reacción inflamatoria similar a

la enfermedad de Crohn, invasión linfática y gran cantidad de linfocitos infiltrantes del tumor (TIL) (126, 127).

Se han descrito numerosas variantes y subtipos histológicos del adenocarcinoma de endometrio. Algunos como el adenoacantoma, carcinoma adenoescamoso, carcinoma secretor y carcinoma ciliado son considerados variantes del adenocarcinoma endometriode. Otros como el carcinoma papilar seroso, carcinoma de células claras y carcinoma mucinoso son considerados, desde el comienzo, como variedades no endometrioides, aunque a pesar de esto pueden coexistir simultáneamente con formas del tipo endometriode. A continuación se caracterizan brevemente cada una de estas variantes.

- Adenoacantoma es el término tradicionalmente empleado para las áreas de adenocarcinoma endometriode bien diferenciado que contienen zonas escamosas bien diferenciadas que derivan de metaplasia de las glándulas tumorales. Su historia natural es similar a la del adenocarcinoma ordinario de un grado similar de diferenciación sin cambios escamosos (128).
- El carcinoma adenoescamoso (mixto) se refiere al adenocarcinoma que contiene elementos escamosos de apariencia maligna. En algunas series, la incidencia de este tipo de tumor ha sido muy alta (> 30% de todos los carcinomas de útero y en aumento). Las pacientes con carcinoma adenoescamoso tienen peor pronóstico que aquellas con adenocarcinoma o adenoacantoma. De cualquier manera, muchos estudios que analizan los casos estadio por estadio y grado por grado señalan que no existen diferencias pronósticas entre el adenocarcinoma puro, el adenoacantoma y el carcinoma adenoescamoso. Por lo tanto, parece que

la mala reputación que tienen los carcinomas adenoescamosos se debe básicamente a que suelen ser adenocarcinomas de alto grado, mientras que los adenoacantomas son tumores de bajo grado (128-130).

- El carcinoma secretor se caracteriza por presentar glándulas neoplásicas que tienen vacuolización subnuclear similar a la observada en un día 17 en un endometrio secretor normal; se acompaña de un patrón secretor tardío en el endometrio adyacente no afectado. Este tumor no se considera un tipo específico de carcinoma endometrial, sino la expresión de un patrón que puede estar presente difusa o focalmente en un carcinoma endometrioide bien diferenciado, con frecuencia como resultado de la estimulación por la progesterona. Este tumor debe ser diferenciado del carcinoma de células claras y de los adenocarcinomas de endometrio que exhiben otros tipos de cambios de células claras (104).
- El carcinoma ciliado es una variante extremadamente rara del adenocarcinoma de endometrio que está compuesto predominantemente por células ciliadas y que debe de ser diferenciado de la metaplasia de células ciliadas, la cual es mucho más común (131, 132).
- El carcinoma mucinoso es un subtipo tumoral caracterizado por la presencia de abundante secreción de mucina. Se diferencia de la metaplasia mucinosa por la distorsión arquitectural y la atipia citológica, aunque en ocasiones el carcinoma puede presentar un aspecto anodino. Debe señalarse que a menudo se encuentran focos dispersos de positividad para mucina en el adenocarcinoma endometrial normal y que no son necesariamente una indicación de origen endocervical. La diferencia entre el adenocarcinoma mucinoso endometrial y el adenocarcinoma

endocervical primario no puede hacerse basándose en las diferencias morfológicas y de IHQ porque muchas veces depende del lugar de la toma de la muestra. Inmunohistoquímicamente el adenocarcinoma mucinoso de útero es positivo para la citoqueratina (CK) 20, pero no para proteína caudal homeobox 2 (CDX-2) (133-135).

En ocasiones, el adenocarcinoma mucinoso de útero o el tipo mixto mucinoso-endometrioide exhiben un patrón morfológico microglandular asociado a secreción mucinosa eosinofílica intraluminal e infiltrado inflamatorio agudo prominente, lo que simula la apariencia de la hiperplasia endocervical microglandular (104, 136).

- El carcinoma seroso papilar es una forma muy agresiva del adenocarcinoma de endometrio que simula al carcinoma papilar seroso del ovario. Se caracteriza por un complejo patrón de crecimiento papilar asociado a una marcada atipia citológica (pleomorfismo, hipercromasia y nucléolo prominente), numerosas mitosis, extensa necrosis, cuerpos de psamoma (30% de los casos) e invasión miometrial prominente. Debe distinguirse del ya mencionado y mucho más común adenocarcinoma de endometrio con patrón de crecimiento villoglandular con el que comparte muchas características arquitecturales. En este sentido, un aspecto clave es el alto grado de concordancia de sus características citológicas, que también son evidentes en las citologías cervicovaginales. Por el contrario, las papilas pueden ser escasas y el tumor puede crecer principalmente en forma de estructuras túbulo-glandulares, lo que plantea un diagnóstico diferencial con el carcinoma endometrioide. En este punto cabe mencionar que los cuerpos de psamoma no son necesariamente indicativos de un tumor de tipo seroso papilar,

ya que también se ven en el adenocarcinoma endometrioide en ocasiones. El carcinoma seroso papilar de útero puede coexistir con el adenocarcinoma endometrioide de útero o con el seroso papilar de ovario, limitarse a un pólipo endometrial o ser totalmente intramucoso (137-139).

Inmunohistoquímicamente, una tinción fuerte y difusa para la proteína p53 es el hallazgo más característico en el carcinoma seroso papilar. Esto está frecuentemente asociado a la expresión irregular de p16 y a la pérdida de receptores hormonales. En contraste con lo que se describe en el carcinoma seroso de ovario, el gen del tumor de Wilms (WT1) no suele ser positivo en el uterino (137, 140).

- El carcinoma de células claras se caracteriza por la presencia de células grandes claras con márgenes celulares bien definidos que contienen una cantidad variable, pero usualmente importante, de glucógeno. La formación de papilas y la presencia de células en tachuela encontrada en esta variante de adenocarcinoma simula a las observadas en el ovario, cuello uterino y tumores vaginales con el mismo nombre. Su presencia en tumores endometriales superficiales, como un cambio focal en adenocarcinomas y excepcional en pólipos endometriales benignos e incluso en endometrio normal, claramente habla a favor de su origen en restos mullerianos en lugar de histogénesis mesonéfrica. Los hallazgos ultraestructurales e inmunohistoquímicos de este tumor también apoyan esta interpretación. Muchas pacientes son menopáusicas y esto sugiere que no existe una relación entre la exposición intrauterina al dietilestilbestriol y la aparición de este cáncer como existe con algunos tumores similares en la vagina y el cuello uterino (141-143).

Sin embargo, artículos recientes enfatizan en las similitudes que existen entre el carcinoma de células claras y el adenocarcinoma endometrioide convencional y actualmente se considera que está más estrechamente vinculado al carcinoma seroso papilar tanto en términos de morfología como de historia natural (137, 144).

- El carcinoma indiferenciado es probablemente el final de las líneas de diferenciación del adenocarcinoma endometrioide, seroso y otros tipos histológicos. Crece formando nidos sólidos de células epitelioides sin signos de diferenciación. Es importante diferenciarlo del adenocarcinoma endometrioide grado 3, ya que el pronóstico es peor. La asociación entre el carcinoma indiferenciado y el adenocarcinoma endometrioide de bajo grado se interpreta como una forma de dediferenciación tumoral. Algunos casos publicados de carcinoma indiferenciado ocurrieron en mujeres jóvenes y tuvieron un curso clínico fulminante (145-147).
- El carcinoma de células pequeñas se presenta macroscópicamente con un tumor voluminoso mal definido e invasivo. En raros casos se observa confinado a un pólipo endometrial. Puede estar asociado a áreas de adenocarcinoma de endometrio endometrioide o seroso, o formar parte de los componentes de un tumor mulleriano mixto. Desde el punto de vista de IHQ usualmente son positivos para enolasa neuronal específica (NSE) y queratinas de bajo peso molecular. Algunos también son positivos para sinaptofisina y cromogranina (CG). Su comportamiento es muy agresivo, al igual que los que se encuentran en pulmón, cuello uterino y otros órganos. También existen tumores neuroendocrinos de alto grado, pero con componente de células grandes o

intermedias, puros o en asociación con el adenocarcinoma endometrioide (148-150).

- El carcinoma epidermoide es extremadamente raro en su forma pura en el endometrio y es muy importante en este caso pensar en la posibilidad de un carcinoma del cuello uterino. Algunos casos se han desarrollado en pacientes ancianas con piorrea, presumiblemente sobre la base de una metaplasia escamosa endometrial preexistente. Otros se han producido en asociación con glándulas mucinosas de origen cervical presumiblemente heterotópicas (138).
- El carcinoma de células gigantes es una forma rara y pleomórfica de adenocarcinoma de endometrio de alto grado, caracterizado por células fusocelulares poco cohesivas y células gigantes multinucleadas bizarras. Puede estar asociado a áreas mejor diferenciadas de carcinoma endometrioide o de células claras (151, 152).
- El CE con diferenciación trofoblástica debe ser diferenciado del coriocarcinoma gestacional. Las células multinucleadas que simulan al sincitiotrofoblasto suelen mostrar una alta expresión para la gonadotropina coriónica humana (hCG). Las áreas no trofoblásticas suelen mostrar diferenciación serosa en vez de diferenciación endometrioide. Un fenómeno relacionado y aún más raro es el carcinoma endometrial secretor de AFP (153, 154).
- El carcinoma de células oxifílicas es una variedad muy rara del carcinoma endometrioide que se caracteriza por la presencia parcial o exclusiva de células grandes oxifílicas (155, 56).
- El carcinoma endometrioide con diferenciación sertoliforme es similar a aquellos observados en los tumores endometrioides del ovario. Este fenotipo es

diferente al observado en los tumores uterinos que semejan a los tumores de los cordones sexuales. El término carcinoma endometriode hialinizado ha sido propuesto para indicar sus características morfológicas más relevantes (157, 158).

- El carcinoma de células transicionales muestra hallazgos citológicos y arquitectónicos similares a los observados en el carcinoma urotelial de las vías urinarias bajas, pero mantiene un perfil mulleriano. Casi siempre se presenta asociado a uno u otro de los patrones más convencionales (159-161).
- El adenocarcinoma hepatoide ha sido descrito como derivado del endometrio, en asociación con la producción de AFP (162, 163).
- El adenocarcinoma de células en anillo de sello ha sido descrito como un tumor primario uterino. Antes de hacer este diagnóstico, todo el esfuerzo se debe enfocar en descartar una metástasis de mama, de estómago o de células decidualizadas vacuoladas o histiocitos estromales que simulen células en anillo de sello (164, 165).
- El carcinoma linfoepitelial es igual al observado en otros lugares del organismo, aunque en los casos publicados no se ha demostrado asociación con la infección por el virus de Epstein-Barr (VEB) (138).
- El tumor rabdoide del útero representa, al menos en algunos casos, un tumor endometriode desdiferenciado debido a que en ocasiones se encuentran asociados (166).
- El carcinoma mesonéfrico del endometrio es un tumor que deriva de los remanentes del conducto de Wolff; por lo tanto, no está relacionado con el carcinoma de células claras descrito anteriormente (que en el pasado fue

incorrectamente llamado mesonéfrico). Debuta como una masa miometrial (167).

A pesar de todas estas posibilidades histológicas y como ya se dijo al resumir la taxonomía del CE, más del 95% puede clasificarse en dos grupos clínico-patológicos: los ya indicados CE tipo I y II (168).

Resumiendo las características histopatológicas de estos dos tipos de CE, el tipo I, representado (mayor frecuencia) por el carcinoma endometriode, se presenta con apariencia similar a la del endometrio normal. Por su parte, las variantes de tumores mucinoso y adenoescamoso se asocian, respectivamente, con un parecido al endocérnix y la producción de queratinización (104). En general, los carcinomas de tipo I suelen ser indoloros. Los carcinomas dentro de esta clase se encuentran afectados por la modulación endocrina (estrógenos sin oposición de progesterona), diferenciándose más efectivamente con pleomorfismo nuclear leve a moderado y mostrando una menor invasión miometrial y un bajo potencial para la diseminación linfática (169, 170).

En cuando a los carcinomas de tipo II, los mismos usualmente se encuentran caracterizados por hallazgos histopatológicos de células claras o serosas, así como por fenotipos muy poco diferenciables o directamente no diferenciables (171). No se asocian an evidencia clínica de estimulación estrogénica, muestran una baja sensibilidad a la progesterona y generalmente surgen en el contexto de un endometrio atrófico. Asimismo, muestran un elevado grado de pleomorfismo nuclear, una profunda invasión miometrial, un elevado riesgo de diseminación linfática y un curso clínico más agresivo (172, 173).

1.1.4. Citología

Tras describir las principales características histopatológicas del CE, se enumeran sus rasgos citopatológicos (104, 105):

- A partir de muestras obtenidas de forma directa de la cavidad uterina, células malignas generalmente similares a las observadas en frotis cervicovaginal.
- Placas celulares irregulares superpuestas, con tamaño variable y menor cohesividad.
- Esporádicas formaciones papilares, moruliformes o en rosetas.
- Vacuolizaciones citoplasmáticas que derivan en alteraciones morfológicas nucleares, con probable fagocitosis de leucocitos y tendencia a la basofilia.
- Núcleos de gran tamaño, así como hipercromáticos, con nucléolos evidentes, posible actividad mitótica y distribución anormal de cromatina.
- Diátesis tumoral.
- Ausencia de células estromales.

Respecto de los métodos para el análisis citopatológico del CE, Montalvo Esquivel y cols. (19) enumeran varios de ellos, discriminándolos según la finalidad investigativa.

Así, se tiene:

- Estudios de extensión: citología cervicovaginal, histeroscopia con toma de biopsia dirigida para evaluar el tamaño y localización del tumor (afección a istmo, canal cervical) (174).
- Estadificación: citología de lavado peritoneal positiva para células malignas u otro factor de riesgo (175).

- Cirugía de estadificación en histología favorable (CE de tipo I): citología de líquido en caso de ascitis o lavado peritoneal.
- Cirugía de estadificación en histología desfavorable (CE de tipo II): citología de líquido en caso de ascitis o lavado peritoneal.
- Seguimiento del paciente: citología vaginal (hasta el quinto año).

Desafortunadamente, el efecto masivo del *screening* para reducir el carcinoma invasivo de cérvix no tiene el mismo efecto sobre el CE. Los programas de detección selectiva citológicos no son tan efectivos para la detección de este tumor, dado que la citología solo es positiva en el 50% de los casos. Con raspados cervicales, esta tasa aumenta hasta un 60% y con material de la pared vaginal, hasta un 75%. La presencia de células endometriales normales en una citología cervical sugiere la presencia de hiperplasia cervical, atipia o carcinoma, por lo que es una indicación para la realización de una biopsia de endometrio. Otras indicaciones para la biopsia de endometrio son: sangrado endometrial anormal, sangrado posmenopáusico, seguimiento de hiperplasia diagnosticada con anterioridad, evaluación de la respuesta del útero al tratamiento hormonal, evaluación de las pacientes con 1 año de amenorrea, evaluación de infertilidad y frotis cervicovaginal anormal con células atípicas (176).

Se han empleado muchas técnicas citológicas para aumentar la tasa de positividad. La más utilizada y aceptada por las pacientes es la biopsia por aspiración. Sin embargo, la aplicación generalizada de cualquiera de estos métodos para la detección en masa sigue siendo problemática (104, 105).

La biopsia por aspiración representa uno de los métodos de toma de biopsia endometrial, considerándose dentro de las técnicas o procedimientos mínimamente invasivos (de manera conjunta con la citología endometrial), en comparación con aquellos invasivos (por ejemplo, legrado ginecológico clásico). La biopsia por aspiración se ha asociado con una sensibilidad del 92-98%, mucho mayor que la encontrada con los legrados ginecológicos clásicos o la citología endometrial (ambos muestran una sensibilidad del 88%) (177, 178). En este sentido, la tendencia actual para tomar la muestra endometrial es el método de aspiración, la cual por lo general utiliza una cánula de Pipelle (cánula plástica, angosta, económica, no requiere tenáculo cervical, se asocia con menor dolor, mayor aceptación de la paciente y consigue adecuada toma de muestra tisular endometrial. No obstante, la técnica se recomienda como primer paso de evaluación del paciente con sangrado uterino anormal y sospecha de patología del endometrio, derivando los otros métodos para situaciones de mayor complejidad: por ejemplo, biopsia endometrial y legrado ginecológico clásico cuando se presente estenosis cervical, intolerancia a la aspiración, sangrado uterino recurrente después de una biopsia endometrial con resultados negativos o insuficiencia de la muestra tisular para explicar el sangrado uterino anormal (104, 179, 180).

Actualmente, el método de preparación en base líquida (LBP) de lesiones endometriales representa una importante herramienta diagnóstica para un gran espectro de anormalidades del endometrio, lo que se justifica, en principio, desde la simplicidad de la técnica y de los resultados cualicuantitativos producidos. La técnica de LBP se ha asociado con las siguientes principales ventajas, con comparación con los métodos convencionales (181):

- Reducción de la contaminación de la mucosa y de la sangre (reducción de factores confundidores).
- Distribución uniforme de las células en una fina capa.
- El material remanente en el vial tras el diagnóstico celular puede utilizarse en técnicas auxiliares como IHQ, citometría de flujo (CMF) y biología molecular.
- Permite el almacenamiento de una gran cantidad de células.

Sumado a ello, se ha informado que la técnica de LBP se asocia a una sensibilidad diagnóstica igual o mayor que aquella de las preparaciones convencionales (182-185). Esta mejora de la capacidad de diagnóstico citológico sugiere la conveniencia del uso rutinario en la evaluación endometrial (181).

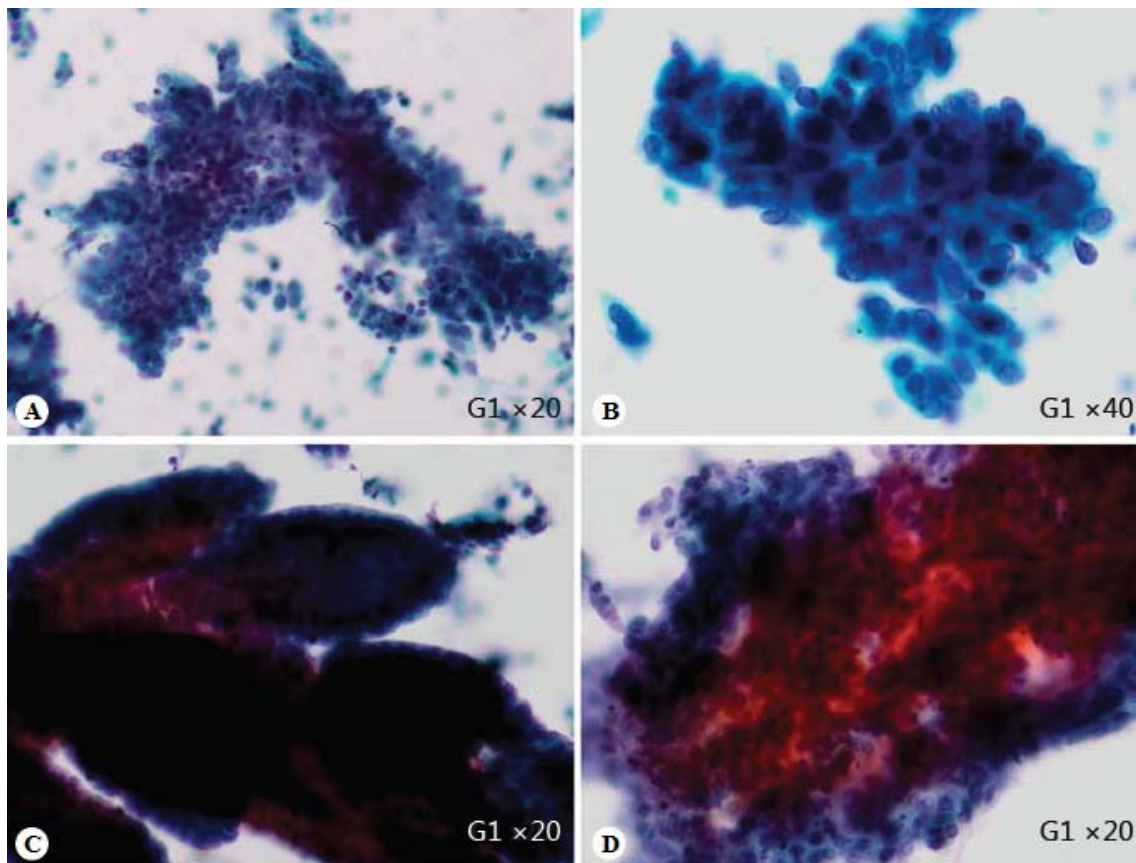
Se ha demostrado que la LBP posee una buena especificidad y valor predictivo positivo (VPP) para la detección de trastornos endometriales, así como una reducida tasa de diagnósticos falsos, todo ello en comparación con la biopsia (186).

Respecto del CE tipo I, la LBP ha permitido identificar las siguientes características histopatológicas (187, 188):

- Complejo patrón de crecimiento papilar con prolongaciones fibrosas delgadas revestidas por el epitelio.
- Epitelio papilar sin un eje fibrovascular.
- Patrón glandular confluyente que crea una estructura cribriforme.

Estos resultados de citoarquitectura se relacionan, según Skaarland (189) y Norimatsu (190), con patrones de protrusión irregular o papilotubular, según se presenta en la siguiente figura.

Figura 1. (A y B) Patrones de protrusión irregular asociados con proyecciones pequeñas irregulares en los bordes de los grumos celulares. (C y D) Patrones papilotubulares. En el primero, la glándula endometrial muestra un patrón de crecimiento papilar con ramificaciones y proyecciones irregulares. En el segundo, se halla formación de un amplio espacio glandular y estructuras *adosadas*, con patrón cribriforme.



Fuente: Extraído de Norimatsu Y, Yanoh K, Kobayashi TK. The role of liquid-based preparation in the evaluation of endometrial cytology. Acta Cytol. 2013;57(5):423-35.

1.1.5. Histoquímica y hallazgos inmunohistoquímicos

La IHQ permite identificar o establecer perfiles diagnósticos, pronósticos y/o predictivos en tumores ginecológicos o de otros orígenes. Si bien en la mayor parte de los tumores ginecológicos la tinción hematoxilina-eosina (H-E) resulta de gran utilidad para identificar los tumores y lesiones, algunos casos representan un gran desafío y las tinciones IHQ contribuyen a resolver los casos dudosos (191-193).

En este contexto de interpretación, actualmente no existen anticuerpos específicos para las distintas neoplasias y la interpretación de la IHQ debe realizarse teniendo en consideración los parámetros morfológicos y la expresión aberrante de antígenos (Ag). En este sentido es muy importante emplear siempre paneles de anticuerpos, en lugar de uno solo (191).

En términos de panel general de anticuerpos utilizables para IHQ de tumores ginecológicos, a continuación se mencionan los principales (194):

- Pan-citoqueratina (PCK) (CK AE1/AE3).
- Antígeno carcinoembrionario (CEA).
- CK20.
- CK7.
- h-caldesmán (h-CALD).
- Desmina.
- Actina de músculo liso.
- CD10.
- CD117.

- CA-125.
- Receptores de estrógenos.
- Receptores de progesterona.
- WT-1.
- Ki-67.
- Proteína p53.
- Fosfatasa alcalina placentaria (PLAP).
- CD30.
- Fracción beta de la hCG.
- AFP.
- Sinaptofisina.
- HCG.
- Vimentina.
- Calretinina (CALR).
- Antígeno específico del melanosoma (Melan-A).
- Alfa-1-inhibina.
- CD56.
- CD45.
- CD99.

La siguiente tabla los resultados que se obtienen con los distintos marcadores de IHQ para los casos de CE tipo I y II, considerando distintos campos de evaluación diagnóstica diferencial.

Tabla 1. Positividad/ negatividad de marcadores de IHQ en el diagnóstico diferencial de los CE tipo I y II.

Evaluación diferencial	Positividad	Negatividad
Adenocarcinoma	CK7	CK20
endometrioide (CE tipo I)/	ER	
Carcinoma de colon	PR	
metastásico	CA 125	
Adenocarcinoma	Vimentina	CEA
endometrioide (CE Tipo I)/	ER/ PR	p16
Adenocarcinoma	p16	
endocervical		
Carcinoma mucinoso (CE Tipo II)/ Hiperplasia microglandular	Vimentina	
CE invasivo/ CE no invasivo	CD10	
Estroma endometrial/ Tumor del músculo liso	SMA	SMA
	Desmina	Desmina
	CD10	CD10
Sarcoma estromal	CD10	CD34
endometrial/ Tumor pericitomatoso	ER	
	PR	
	AE1/ AE3	
CE indiferenciado/ Sarcoma uterino indiferenciado/	Citoqueratinas	ER
	EMA	PR

Evaluación diferencial	Positividad	Negatividad
Carcinosarcoma	MLH	MLH
CE/ Adenocarcinoma cervical	ER	p16
	Vimentina	CEA monoclonal
IMS-H	MLH1	MLH1
	MSH2	MSH2
	MSH6	MSH6
	PMS2	PMS2
Carcinoma seroso/ CE Tipo I	p53	p53
	ER/ PR	
	β-catenina	
	E-cadherina	
	Marcadores útiles	
CE Tipo I/ CE Tipo II	p53 (negativo/ difuso)	
	M1B1 (moderado/ positivo)	
	ER (positivo/ negativo)	
	β-catenina (positivo/ negativo)	
	E-cadherina (negativo/ positivo)	

Fuente: Mittal K, Soslow R, McCluggage WG. Application of immunohistochemistry to gynecologic pathology. Arch Pathol Lab Med. 2008;132(3):402-23; Deavers MT, Malpica A, Silva EG. Immunohistochemistry in gynecological pathology. Int J Gynecol Cancer. 2003;13(5):567-79; McCluggage WG. A critical appraisal of the value of immunohistochemistry in diagnosis of uterine neoplasms. Adv Anat Pathol. 2004;11(3):162-71.

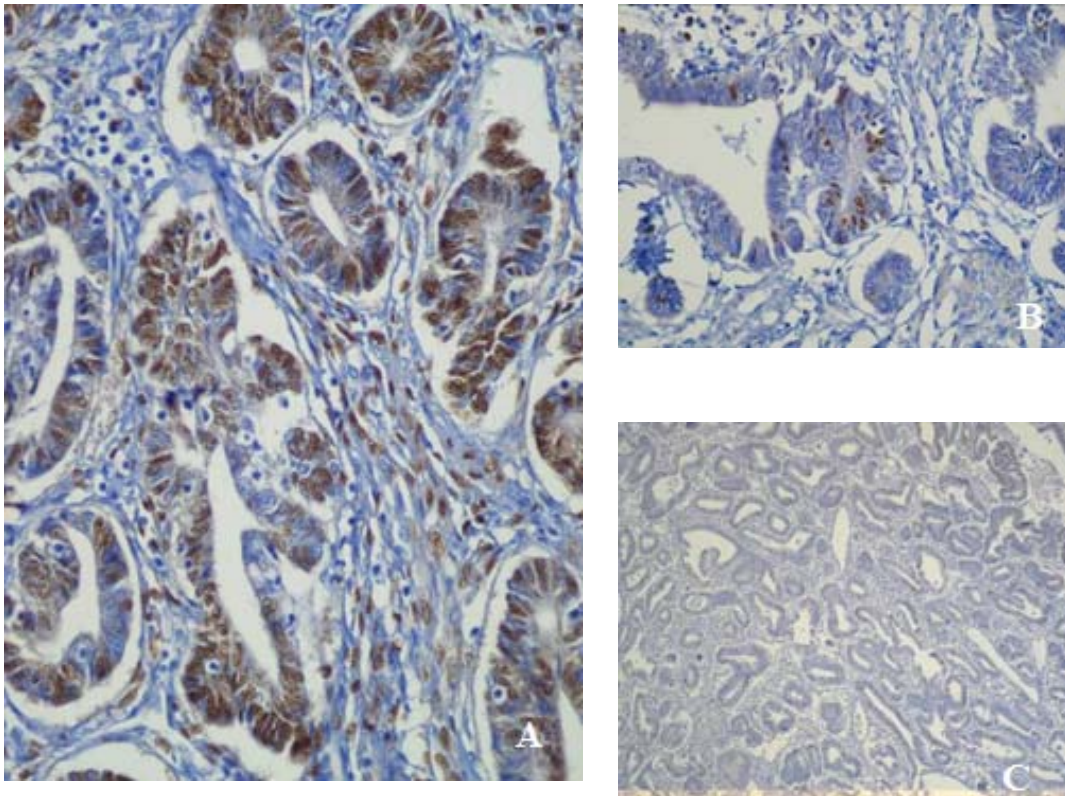
Nota: La positividad/ negatividad alude al primer tumor mencionado.

En términos generales, el adenocarcinoma endometriode (CE tipo I) es positivo para queratinas, especialmente 7, 8, 18 y 19, vimentina (60-85% de los casos) PAX8, CEA (generalmente limitada a áreas de metaplasia escamosa y menos aún que los carcinomas cervicales), CA-125, IgA y componente secretor, MUC1 (pero no MUC2 ni MUC5AC), Ulex europaeus, aglutinina I y amilasa (12% de los casos). La coexpresión de queratinas y vimentina es común. En algunas células tumorales también se puede encontrar la expresión de proteína gliofibrilar ácida. Los receptores de estrógenos y progesterona son positivos en la mayoría de los casos de adenocarcinoma de endometrio (Fig. 2). El carcinoma endometriode tiene la mayor tasa de positividad de receptores seguido por el carcinoma seroso y el carcinoma de células claras. Los carcinomas adenoescamosos de alto grado son constantemente negativos. En los carcinomas endometrioides y sus variantes, la expresión de receptores esta en relación con el estadio de la FIGO, grado de la FIGO y grado nuclear. Los grados de positividad de los receptores de estrógenos y progesterona son a menudo similares. La sobreexpresión de HER2 está presente en aproximadamente el 25% de los casos. Se describe positividad para CD117 en aproximadamente la mitad de los casos, aunque también lo es en el 90% de los endometrios proliferativos normales. El transportador de glucosa (GLU-1) se halla sobreexpresado en la mayoría de las hiperplasias endometriales atípicas y adenocarcinomas (especialmente en los de tipo seroso), pero al parecer no en el endometrio normal o hiperplasia endometriales simples o complejas sin atipia. La expresión de las moléculas de adhesión celular, como β -catenina y E-cadherina, está en relación con el tipo histológico, en el sentido de que ambos tienden a estar presentes en

el carcinoma endometriode y ausentes en el carcinoma seroso papilar. Por el contrario, la proteína oncofetal IMP3 está relacionada con el carcinoma seroso en lugar del carcinoma endometriode. Un hallazgo con significado diagnóstico es que el WT1 es casi siempre positivo en el carcinoma seroso papilar de ovario y en sus metástasis, y negativo en el carcinoma seroso papilar de endometrio de la misma forma que en otros tipos histológicos de CE. Otro marcador que parece tener utilidad diagnóstica es el IMP3 positivo (o en combinación con el homólogo de fosfatasa y tensina –PTEN- positivo) en el diagnóstico de carcinoma seroso. Un dato interesante y que puede conducir a errores diagnósticos es la posible expresión de TTF1, el cual está relacionado con el cáncer de pulmón y de tiroides, en los CE y de endocervix (191-194).

Por su parte, el CE de tipo I suele asociarse con un bajo índice de Ki-67 y ser negativo para la proteína p53 (Fig. 2).

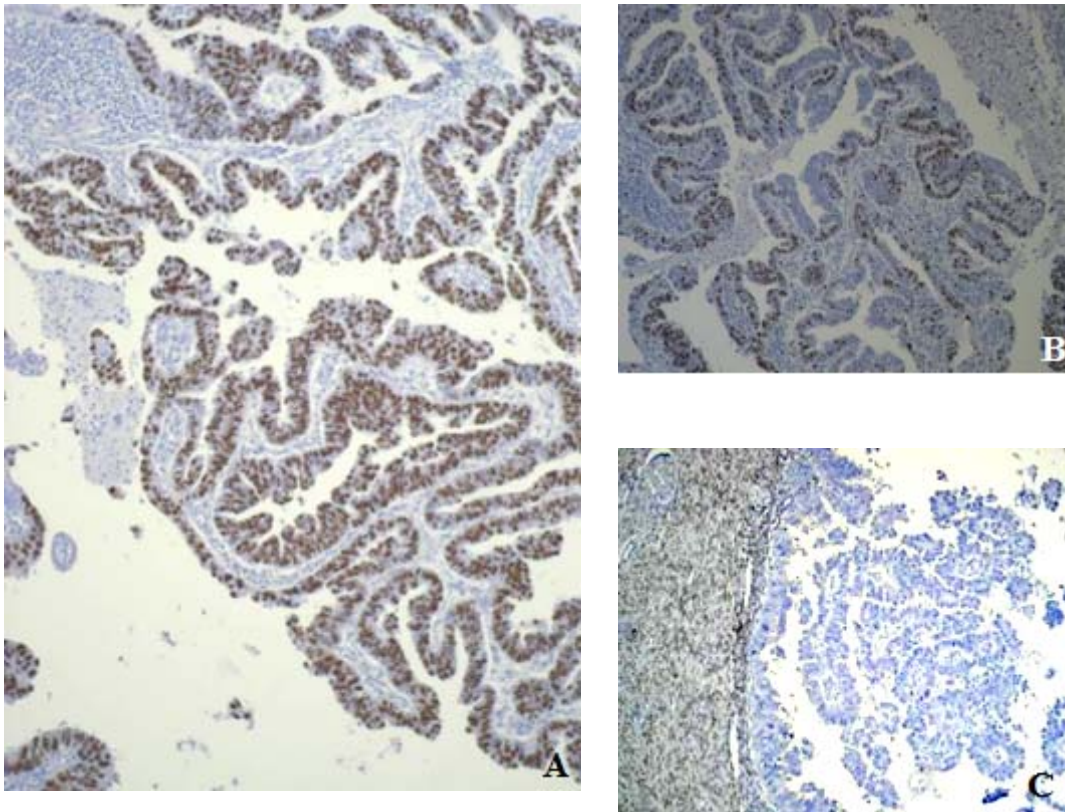
Figura 2. Resultados de IHQ para adenocarcinoma endometriode asociados a la positividad de receptores de estrógenos (A), bajo índice de Ki-67 (B) y negatividad de la proteína p53 (C).



Fuente: Extraído de Zárate Osorno A. Inmunohistoquímica de tumores ginecológicos. México, D.F.: Hospital Español de México; 1998.

En los CE tipo II, por el contrario, suele hallarse negatividad a los receptores de estrógenos, un elevado índice de Ki-67 y positividad para la proteína p53 (Fig. 3).

Figura 3. Resultados de IHQ para CE Tipo II asociados a la positividad de la proteína p53 (A), alto índice de Ki-67 (B) y negatividad de receptores de estrógenos (C).



Fuente: Extraído de Zárate Osorno A. Inmunohistoquímica de tumores ginecológicos. México, D.F.: Hospital Español de México; 1998.

1.1.6. Características genéticas moleculares. Clasificación molecular del cáncer de endometrio.

Genética del cáncer de endometrio.

Existen datos moleculares que apoyan la clasificación de Bokhman. Los cánceres de tipo I se asocian preferentemente a mutaciones de los genes PTEN, KRAS, CTNNB y PIK3CA de inestabilidad microsatélites puntos los carcinomas tipo II muestran mutaciones del gen P53 y amplificación de HER2. Ambos tipos de tumores difieren también a nivel transcripcional y en el número de copias de los genes alterados.

Sin embargo, a pesar de que la clasificación dicotómica es útil, ambos grupos son heterogéneos y además, existen tumores en los que se superponen características de ambos tipos. Las características de las pacientes en que fueron definidos los grupos en los años 80 pueden haber cambiado en cuanto a distribución de los factores de riesgo, Existen factores de riesgo comunes en ambos tipos como obesidad y diabetes. Entre un 10-19% de los cáncer endometriales son de alto grado y tienen características clínicas, histopatológicas y moleculares intermedias entre las de los grupos I y II o más cercanas a las del tipo II. De la misma forma, un pequeño porcentaje de tumores serosos tienen relación con hiperplasia endometrial, y escasa frecuencia de invasión miometrial. Algunos tipos histológicos, como células claras o indiferenciados, no están incluidos ni encajan en la clasificación de Bokhman.

A nivel anatomopatológico a veces es difícil clasificar los tumores, especialmente los de alto grado, incluso siendo analizados por patólogos experimentados y con el uso de inmunohistoquímica. Además la concordancia entre observadores en la evaluación de factores de mal pronóstico, como el grado histológico o la invasión del espacio linfovascular, es mala.

A nivel molecular los tipos de Bokhman se solapan frecuentemente en las alteraciones genéticas que presentan.

Alteraciones genéticas del cáncer de endometrio.

Las investigaciones iniciales se centraban en regiones únicas, pero los estudios de secuenciación actuales permiten un estudio amplio del genoma. Los diferentes genes candidatos son analizados para detectar la presencia de mutaciones y aberraciones en el número de copias. Los carcinomas endometriales presentan una elevada tasa de mutaciones relacionada principalmente con áreas de señalización que regulan el crecimiento, la supervivencia de las células y la transcripción genética.

La vía de señalización de la fosfatidilinositol cinasa 3/ proteína cinasa B es la más frecuentemente alterada en los adenocarcinomas endometriales y el 80% tienen más mutaciones somáticas que la afectan. El gen PTEN es un gen supresor de tumores que regula negativamente el crecimiento tumoral. Su inactivación puede deberse a mutaciones de degradación de la proteína que codifica o metilación del promotor, lo que conllevaría una proliferación celular aberrante e inhibición de la apoptosis. Las alteraciones en el gen PTEN están presentes en hasta un 80% de los carcinomas endometrioides, un 10% de los no endometrioides, un 20% de las hiperplasias y un 55% de las lesiones precancerosas. Por ello es probable que las mutaciones del PTEN sean uno de los eventos iniciales en el desarrollo del cáncer de endometrio. PIK3CA, PIK3R1 y PIK3R2 son genes implicados en la vía de la PIK3/Akt. Las mutaciones de PIK3CA se presentan en hasta un 35% de los carcinomas endometrioides y en el 15% de los no endometrioides y con frecuencia se asocian a mutaciones del gen PTEN. Las mutaciones de PIK3R1 Y PIK3R2 están presentes en el 20 y 5% de los cánceres endometrio, respectivamente. El aumento de la actividad de AKT está documentado en el cáncer de endometrio.

La mutación de PIK3CA se presenta con frecuencia tanto en carcinomas endometrioides como serosos, mientras que las de PTEN, PIK3R1 y KRAS son menos frecuentes en estos últimos.

Los conocimientos relacionados con el papel determinante de estas vías de señalización en su en el desarrollo y progresión del cáncer han llevado al desarrollo de agentes terapéuticos dirigidos contra ellas.

En hasta un 45% de los carcinomas serosos la vía del PI3K/AKT/mTOR puede ser activada por amplificaciones del gen HER 2. La amplificación de HER2 en el cáncer de endometrio un factor de mal pronóstico independiente de factores tan importantes como la invasión miometrial y la presencia metástasis. A pesar de ser un tumor hormonodependiente, la presencia de receptores para estrógenos y progesterona no ha sido considerada factor pronóstico. Los tumores más agresivos son aquellos con receptores de estrógenos y progesterona negativos y con amplificación de HER2. Este tipo de lesiones se asocian a una menor supervivencia, mayor frecuencia de histología no endometriode, estadio más avanzado, mayor infiltración miometrial, metástasis y mayor expresión de proteína P53 mutada. Ya se ha sugerido que el estado de HER2 y los receptores de estrógenos y progesterona pueden utilizarse como predictores de respuesta al tratamiento, como ocurre en el cáncer de mama.

El oncogen KRAS es clave en la vía de señalización RAS-MAPK (cascada de señalización del receptor del factor de crecimiento epitelial o EGFR) y su mutación esta relacionada con el desarrollo de diferentes carcinoma con diferenciación mucinosa. Su mutación conlleva la activación constitutiva de esta vía sin necesidad de unión del

ligando. La mutación de KRAS se ha encontrado hasta los 55% de las lesiones mucinosas endometriales con atipia y en el 86% de los carcinomas mucinosos, lo que sugiere su implicación en la patogenia y progresión de estos tumores. Independientemente de la diferenciación mucinosa, la mutación del gen KRAS se ha detectado en un 10-30% de los carcinomas endometriales (en un 45% de los endometrioides y en el 10% de los serosos). El 60-80% de los cánceres endometriales sobreexpresan EGFR. Por ello sus inhibidores podría ser una opción terapéutica en pacientes con enfermedad recurrente o metastásica.

Las alteraciones de la vía de la Wnt/b-catenina, especialmente la pérdida de expresión de la E-Cadherina, se detectan en un 50% de los carcinomas endometrioides y hasta en un 80% de los serosos. El acúmulo de B-catenina nuclear, marcador de la activación de la vía de la Wnt/b-catenina, es una alteración casi exclusiva de los tumores endometrioides. La inestabilidad de microsatélites (alteración del número de repetición de estas secuencias de ADN) principalmente por la hipermentilación del gen MLH1 se presenta en un tercio de los carcinomas endometrioides esporádicos, pero es rara en los serosos.

Las mutaciones del gen supresor de los tumores TP53 aparecen en el 90% de los carcinomas serosos, en el 30% de los endometrioides de alto grado y en el 10% de los de bajo grado. Su presencia en el 75% de los carcinomas intraepiteliales serosos de endometrio (precursor de los tumores serosos) apoya la hipótesis de que esta mutación es un evento temprano en la génesis de estos tumores.

Las mutaciones en ARID1A, implicado en la regulación de la transcripción, determinan la pérdida de la expresión de la proteína que codifica (BAF250a) y se describen tanto en carcinomas endometrioides de alto y bajo grado como en carcinomas serosos y de células claras, metástasis de carcinomas endometrioides e hiperplasias endometriales complejas con atipia. Por ello se ha propuesto que juegan un papel en la progresión tumoral.

Las mutaciones en PPP2R1A, relacionado con un complejo con efecto supresor de tumores, se presentaron en un 40% de carcinomas serosos con escasa frecuencia en las variantes endometrioides. Su papel en la progresión tumoral está por determinarse.

Las mutaciones en el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR2) se describen en el 10-12 % de los carcinomas de endometrio. En el endometrio normal, se expresa principalmente en la fase secretora y parece tener un efecto supresor tumoral. La activación de tirosina cinasa es un mecanismo común de carcinogénesis. Las alteraciones moleculares del receptor (sobrexpresión o mutaciones puntuales) se han encontrado principalmente en los carcinomas endometrioides. Se encuentran frecuentemente asociadas a mutaciones del gen PTEN, lo que sugiere que ambos utilizan principalmente la vía de señalización de la proteína activada por mitógenos (MAPK). Varios compuestos anti-FGFR están siendo probados en ensayos clínicos en casos de enfermedad avanzada o recidiva de los carcinomas endometrioides.

Los actuales estudios de secuenciación del exoma han revelado la presencia de mutaciones en otros muchos oncogenes y genes supresores tumorales.

Los estudios moleculares presentan una alta concordancia entre el resultado de la muestra de biopsias e histerectomía, a diferencia de lo que ocurre con el grado y el tipo histológico.

Clasificación molecular del cáncer de endometrio.

El atlas de genómica del cáncer publicado en el año 2013 incluyó un análisis genómico, transcriptómico y proteómico del cáncer de endometrio que permite clasificar los tumores en 4 grupos:

- Ultramutados en polimerasa (POLE ultramutated): Presentan gran cantidad de mutaciones y mutaciones en los "puntos calientes" de mutación del gen de la polimerasa, que catalizan la síntesis principal durante la replicación del ADN, regulan el ciclo celular, el remodelamiento de la cromatina y la reparación del ADN. Presentan también aberraciones genéticas, bajo número de copias, aumento de transversiones C→A, y mutaciones en los genes PTEN, PIK3R1, PIK3CA, FBXW7, ARID y KRAS. Son tumores de buen pronóstico.
- Hipermutados con inestabilidad de microsatélites: Presentan gran cantidad de mutaciones y disminución del número de copias, pero sin mutación del gen de la polimerasa. La expresión del gen MLH1 está disminuida en este grupo de tumores (Cancer Genome Atlas Research Network et. Al. 2013). Es un gen relacionado con la reparación de errores del ADN y está frecuentemente mutado en el síndrome de Lynch. Presentan también aberraciones genéticas con bajo número de copias, delección de RPL22 (proteína ribosomal de L22, relacionada con la síntesis proteica) y mutaciones en KRAS y PTEN, además de

alteraciones en otros genes IgH y en vías metabólicas cuya relación con el cáncer de endometrio era desconocida. La inestabilidad de microsatélites se presenta con más frecuencia en tumores de alto grado histológico.

- Con disminución del número de copias: Presentan la mayor estabilidad de microsatélites pero una alta frecuencia de mutaciones en el gen CTNNB1, que mantiene en los epitelios de revestimiento de diferentes órganos, como el endometrio. Presentan un aumento de la expresión del gen del receptor de la progesterona, de forma que son lesiones hormono-dependientes y mutaciones en más de 16 genes, algunos previamente no relacionados con el carcinoma de endometrio. Incluye casos de carcinomas endometrioides grados 1 y 2.
- Con aumento del número de copias: Este grupo de tumores presenta alteraciones que dan lugar a la disregulación del ciclo celular (CCNE1, PIK3CA, MYC y CDKN2A) y mutación del gen TP53. Las mutaciones de los genes PTEN y KRAS son muy infrecuentes y son de mal pronóstico. Incluye casi todos los tumores serosos, algunos mixtos y el 25% de los carcinomas endometrioides de grado 3.

La clasificación genómica y las distintas clasificaciones del cáncer de endometrio tienen implicaciones pronósticas y sobre la elección del tratamiento, además de poder guiar estudio sobre dianas terapéuticas específicas. Tras una cohorte inicial la clasificación en estos 4 grupos se ha podido reproducir en otros estudios.

Integrar los marcadores moleculares con los parámetros histopatológicos puede aportar el mayor valor pronóstico. La utilización de biomarcadores como P53 puede contribuir a la identificación de los tumores de mal pronóstico, que podrían beneficiarse del tratamiento adyuvante y también definir aquellos casos que pueden evitar la radio o quimioterapia a pesar de su grado histológico. La identificación de biomarcadores en los tumores puede ayudar a predecir la sensibilidad o resistencia de los mismos a los distintos esquemas de quimioterapia así como indicar cirugías conservadoras de la fertilidad en mujeres jóvenes con bajo riesgo de enfermedad metastásica.

La detección de biomarcadores con utilidad clínica definida también debería poder integrarse en las estrategias diagnósticas del carcinoma endometrio.

1.1.7. Diseminación y metástasis

Los dos sitios obvios de diseminación directa del CE son el miometrio y el cérvix, ambos con importantes connotaciones pronósticas (195, 221). En la estadificación se divide la afectación miometrial en dos grupos: menor del 50% y mayor del 50%. Esta determinación aparentemente sencilla está realmente plagada de muchas inexactitudes. El plexo vascular miometrial se usa como una guía para esta medición, ya que se considera que si la infiltración carcinomatosa llega o sobrepasa el plexo ha invadido al menos el 50% del miometrio (222). Una situación particularmente difícil es si coexiste la presencia de adenomiosis. Por un lado, la presencia de focos de adenomiosis asociados a carcinoma puede sobre interpretarse como invasión miometrial. Por otra parte, se ha afirmado que la presencia de adenomiosis en carcinomas es un indicador de la probable presencia de invasión miometrial verdadera (223-225).

La invasión del endocérnix por el CE es muy común. Su importancia pronóstica hace que deba de distinguirse de la proliferación endocervical reactiva atípica que suele asociarse al útero con CE (226, 227).

La invasión linfovascular es la ruta más importante de diseminación del CE. Debe ser distinguida de la pseudoinvasión vascular, que se encuentra a veces en piezas de histerectomía laparoscópica y caracterizada por fragmentos de tumor visible en el interior de la luz de los vasos de paredes gruesas en el miometrio o de ectasias en cualquier lugar en el mismo. Estos fragmentos de tumor están separados de la pared vascular, no se acompañan de infiltrado inflamatorio perivascular y suelen coexistir con fragmentos de tumor en hendiduras miometriales. La naturaleza artefactual de este hallazgo parece bien establecida, pero el mecanismo de producción y la identidad de los culpables (cirujano o patólogo) no han sido establecidas (228, 229).

Los sitios más comunes de diseminación extrauterina del carcinoma endometriode son los ganglios linfáticos pélvicos y paraaórticos y el ovario (221, 230). Las metástasis linfáticas ocurren en aproximadamente el 5-25% de los casos en tumores clínicamente en estadio I, con mayor probabilidad de ocurrir en tumores de alto grado, de gran tamaño, profundamente invasivos (sin importar el grado), en los tumores con invasión cervical o con invasión vascular (231-234).

El carcinoma seroso papilar es particularmente propenso a invadir los vasos linfáticos, afectando la superficie peritoneal en estadios tempranos de la enfermedad; asimismo, puede estar presente incluso en estadios de carcinoma intraepitelial. En estos casos, los

análisis moleculares pueden demostrar la enfermedad es clonal, sugiriendo el origen en un solo sitio con propagación secundaria temprana (235).

Otra vía de diseminación del CE es la vía transtubárica (236), pero también se debe tener en cuenta ciertos aspectos. En ocasiones la queratina presente en el CE con metaplasia escamosa en la cavidad uterina viaja a través de las trompas de Falopio para producir implantes en la superficie peritoneal, generando granulomas de tipo cuerpo extraño. Estos hallazgos no deben considerarse como metástasis antes la ausencia de células neoplásicas viables. El seguimiento de estos pacientes sugiere que la presencia de estos implantes peritoneales de queratina no tienen ninguna significado pronóstico y por eso deben diferenciarse de los implantes con células tumorales viables (237).

Los sitios más comunes de recidiva del carcinoma endometrial son la vagina y la pelvis (238). El carcinoma seroso papilar clásicamente se caracteriza por su progresión a través de la cavidad abdominal, de manera similar a la del carcinoma seroso de ovario. La metástasis de este tumor en la vejiga puede simular un tumor primario (239, 240).

Las metástasis a distancia del CE son más frecuentes en el pulmón, hígado, hueso, sistema nervioso central (SNC) y piel. Estas últimas tienden a ocurrir en la región de la cabeza y el cuello especialmente en el cuero cabelludo (241-245).

1.1.8. Coexistencia del carcinoma uterino y otros carcinomas del tracto genital

Aproximadamente el 8% de los carcinomas endometriales ocurren simultáneamente con un carcinoma de ovario (246, 247). Cuando ambos tumores son similares desde el

punto de vista histológico, resulta muy difícil determinar si ambos son tumores primarios o si algo de ellos corresponde a una metástasis (248, 249). Algunos hallazgos que favorecen la naturaleza metastásica del cáncer de ovario incluyen: pequeño tamaño, afectación bilateral, patrón multinodular de crecimiento, presencia de asociación a implantes superficiales, invasión linfática o vascular prominente dentro del estroma ovárico (250, 251).

La IHQ y la CMF parecen tener poco valor en estos casos, al contrario de los estudios moleculares, los cuales son útiles para evaluar la clonalidad. Los resultados de esas evaluaciones parecen indicar que ambas situaciones ocurren pero que al menos en el caso del endometrio hay un mayor número de tumores uterinos primarios y neoplasias ováricas que tumores endometriales que metastaticen al ovario (252, 253). Se han descrito carcinomas endometrioides que aparecen simultáneamente el cuerpo uterino y en las trompas de Falopio. En aproximadamente la mitad de ellos, los tumores de la trompa de Falopio se ubicaron en el extremo distal o fimbrias, y algunos de los tumores eran *in situ* (254).

1.1.9. Tratamiento

El tratamiento convencional del CE es la histerectomía total y salpingo-ooforectomía bilateral con o sin disección de los ganglios linfáticos pélvicos y paraaórticos (16, 255-258). De cualquier manera, esto debe estar acompañado de la estadificación quirúrgica que incluye, como se mencionará, la biopsia de ganglios linfáticos paraaórticos y pélvicos, así como la presencia de alguno de los siguientes hallazgos (259, 260):

- Invasión miometrial mayor al 50%.

- Tumores grado 3.
- Invasión cervical.
- Diseminación extrauterina.
- Hallazgos histológicos desfavorables.
- Ganglios linfáticos palpables.

La radioterapia, que hasta hace poco era recomendada de rutina en combinación con la cirugía, ya no suele indicarse, salvo en pacientes con factores de mal pronóstico y, por tanto, con alto riesgo de recidiva (261, 262). La radioterapia consigue erradicar lesiones limitadas al endometrio, pero solo raramente aquellas con invasión miometrial (263, 264). La recidiva de los tumores posradiación tiende a mostrar una disminución de la expresión de los receptores hormonales y mayor expresión de p53 (265).

Los gestágenos usualmente no son curativos y tienden a producir una regresión tumoral temporal tanto en los tumores endometriales primarios como en las metástasis (266). Las lesiones bien diferenciadas son más propensas a responder y a veces se obtiene la regresión completa. Esto está en consonancia con el hecho que, como ya se ha indicado, existe una asociación entre el grado de diferenciación y la presencia de receptores de estrógenos y progesterona (194, 267). Los carcinomas bien diferenciados tratados con progestágenos muestran una disminución de la relación glándulas/ estroma y de la celularidad glandular, disminución o ausencia de la actividad mitótica, pérdida de la atipia citológica y una variedad de cambios citoplasmáticos, entre los cuales se incluyen alteraciones mucinosas, secretoras, escamosas y metaplasia eosinofílica (268-271).

El tratamiento del carcinoma seroso papilar incluye histerectomía con salpingo-ooforectomía bilateral, omentectomía y estadificación quirúrgica, procedimiento que exige citología peritoneal y pélvica, así como muestreo ganglionar pélvico y paraaórtico. Generalmente, a esto le sigue tratamiento adyuvante, salvo en los casos de tumores mínimamente invasivos (272, 273).

1.1.10. Factores pronósticos

Los factores pronósticos de mayor importancia en el adenocarcinoma de endometrio son:

1. Estadío tumoral, tal como se define por el sistema FIGO. Este refiere a la estadificación quirúrgica, ya que el estadio clínico frecuentemente subestima la magnitud de la enfermedad. La estadificación quirúrgica incluye una búsqueda de diseminación intraperitoneal de tumor, evaluada en preparaciones citológicas, complementadas, si es necesario, con IHQ (109, 221, 274).
2. Nivel de infiltración de la pared miometrial, incorporado en el sistema de estadificación. Los tumores con invasión mayor al 50% del miometrio presentan un peor pronóstico que aquellos que muestran una invasión inferior al 50%. En relación a estos últimos (fase IB), existen diferencias significativas entre aquellos que invaden hasta un tercio y aquellos que invaden más de un tercio, pero menos de la mitad (275-277).
3. Grado de diferenciación microscópico definido por el sistema de la FIGO. Como ya se mencionó, este sistema original y principalmente se basó en la arquitectura más que en las características nucleares, excepto en los tipos histológicos papilar

seroso y de células claras, los cuales que son tumores de alto grado por definición. La adición de un parámetro nuclear al sistema FIGO ha mejorado su significado pronóstico. Existe una relación entre el grado histológico y el nivel de invasión (los tumores bien diferenciados por lo general son más superficiales), pero también hay una correlación entre el grado y la supervivencia dentro de los tumores de alto grado, dado que tienen un mal pronóstico, independientemente del subtipo histológico al que pertenecen (278-280).

4. Extensión cervical. Esto se asocia con un moderado peor pronóstico, independientemente de la naturaleza o la magnitud de la extensión (281, 282).
5. Dependencia estrogénica. Como grupo, los tumores asociados a estimulación estrogénica crónica tienen un mejor pronóstico que los demás grupos. Esto incluye la mayoría de los tumores en pacientes jóvenes (hasta 40 años) y aquellos asociados con el síndrome de Stein–Leventhal, tumores de ovario funcionantes y la administración de estrógenos exógenos. En el mismo sentido, los adenocarcinomas asociados con hiperplasia en el endometrio residual tienen un mejor pronóstico que los que carecen de esta asociación (283).
6. Tipo histológico. Las variantes morfológicas del tipo papilar seroso y de células claras son las más agresivas con una clara tendencia a propagarse intraabdominal superior (144, 284).
7. Invasión de los vasos linfáticos. La permeación tumoral de los vasos linfáticos es un factor de mal pronóstico, particularmente si es severa (difusa o multifocal) (285, 286).

8. Invasión vascular. La presencia de invasión vascular es un factor pronóstico importante en los adenocarcinomas estadio I, esta característica a menudo se ha encontrado asociada a LIT perivascular (287, 288).
9. Estado de los receptores hormonales. Los análisis multivariable han demostrado que el estado del receptor de estrógenos (si se mide bioquímica o inmunohistoquímicamente) es un factor predictor significativo de recidiva y supervivencia (289, 290).
10. Sobreexpresión de p53. Este parámetro se ha asociado al tipo de tumor, grado y estadio (291-293).
11. Expresión de HER2. La intensa sobreexpresión de este oncogén está asociada a un pobre período de supervivencia (294, 295).
12. Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). La expresión de este marcador se correlaciona con un alto grado histológico y una menor tasa de supervivencia (296, 297).
13. Ploidia de ADN. Los tumores aneuploides se asocian a un alto grado histológico, estadio clínico más avanzado y peor pronóstico. Se ha afirmado que la aneuploidia del tumor tiene un valor pronóstico independiente. En algunos estudios se ha demostrado que este es uno de los mejores factores pronósticos junto con la edad y el estadio (298-301).
14. Proliferación celular. Un alto índice mitótico también se ha demostrado que es un signo de agresividad en adenocarcinomas grado o estadio I (302, 303).
15. Gen Rb. Se ha afirmado que la disminución de los niveles de pRb2/p130 se asocia con un mayor riesgo de recurrencia y muerte tumoral, independientemente del estado, estadio y ploidia tumoral (213, 304).

16. Angiogénesis. Se ha demostrado que la densidad vascular es un factor pronóstico independiente en el adenocarcinoma de endometrio (305-308).
17. Otros. Algunos parámetros que indican resultados favorables son la positividad para vimentina, inmunexpresión de S100A1, infiltración de las células de Langerhans, baja expresión de P170 y ausencia de expresión de los genes reparadores (252, 284, 289, 309).

1.2. Síndrome de Lynch

1.2.1. Definición

El síndrome del Lynch, también referenciado como HNPCC, es el síndrome hereditario más común que se asocia a un aumento de la susceptibilidad a padecer cáncer colónico hereditario (310, 311).

El nombre de HNPCC podría ser mal interpretado ya que este síndrome predispone no solo al padecer CCR, sino otra gran variedad de cánceres. Por esta razón, suele utilizarse más comúnmente la denominación síndrome de Lynch (310).

El síndrome de Lynch es un trastorno autosómico dominante causado por una mutación germinal en uno de los genes reparadores del ADN. Es responsable de un 2-3% de todos los cánceres de colon y del 2% de los CE. El síndrome de Lynch se caracteriza por un aumento significativo del riesgo de padecer CCR y CE, así como un mínimo aumento del riesgo de padecer otros tipos de cáncer (311-314).

1.2.2. Manifestaciones clínicas

Los pacientes con síndrome de Lynch tienen un marcado incremento del riesgo de padecer CCR, CE y algunos otros tipos de cánceres, incluido el cáncer de ovario, del tracto urogenital, gástrico, de intestino delgado, vía biliar-pancreático, de piel y del SNC. El riesgo de padecer cáncer en el síndrome de Lynch depende de factores medioambientales (315-318). En este sentido, por ejemplo, el cáncer gástrico se asocia con más frecuencia al síndrome de Lynch en países como China y Corea (319-321). Asimismo, la edad de aparición y el espectro de cánceres en el síndrome de Lynch varía significativamente según en el gen reparador mutado (322, 323).

Al igual que la mayoría de los otros síndromes de cáncer familiar, la edad de aparición y la sincronidad han sido considerados rasgos característicos del síndrome de Lynch (323). En estos pacientes, la edad media de diagnóstico del CCR es aproximadamente 45 años en comparación con el CCR esporádico, en el cual su edad de aparición es de aproximadamente 65 años. Algunos pacientes con síndrome de Lynch pueden padecer CCR a los 20 años (324-326). Asimismo, la edad media de diagnóstico de cáncer uterino asociado al síndrome de Lynch es de aproximadamente 50 años, 10 años menos que el promedio de diagnóstico del cáncer uterino esporádico (327, 328).

En cuanto a la sincronidad, entre el 7-10% de los miembros de una familia tienen más de un cáncer en el momento del diagnóstico del síndrome de Lynch (329). Los individuos con este síndrome también tienen riesgo de padecer CCR metacrónico, que se define como un CCR primario diagnosticado 12 meses después del primer diagnóstico. Aproximadamente el 20 al 40% de pacientes con síndrome de Lynch

asociados a CCR han desarrollado cánceres metacrónicos después de la resección inicial (colectomía subtotal) y el riesgo aumenta con el tiempo (330, 331).

El riesgo de desarrollar cáncer de colon en estos pacientes es aproximadamente el 70% en muchas de las familias registradas en algunos registros, pero este puede ser artificial debido a un sesgo de averiguación (332). La incidencia publicada oscila entre el 25% y el 75% (333) y el riesgo de presentar CCR es ligeramente más elevado en hombres que en mujeres. La edad de inicio variando en función del genotipo del síndrome de Lynch, aunque a pesar de esto siempre es menor que en los cánceres de colon esporádicos (334-337).

El CCR asociado al síndrome de Lynch difiere con respecto al CCR esporádico en localización, histología e historia natural (329, 338). Al igual que la mayoría de los cánceres de colon esporádicos, el cáncer asociado al síndrome de Lynch parece originarse a partir de adenomas, que se caracterizan por tamaño incrementado, lesiones planas, más proximales y más frecuentemente asociadas a displasia de alto grado o histología vellosa que en los CCR esporádicos (315, 339, 340).

La secuencia adenoma-carcinoma suele ser mucho más rápida en pacientes con síndrome de Lynch asociado y se han encontrado casos de cánceres en pacientes con colonoscopias negativas 2-3 años antes (341). Al igual que los adenomas, el CCR en el síndrome de Lynch es más frecuentemente proximal: cerca del 70% del primer CCR en el síndrome de Lynch afectan al colon proximal cerca del ángulo esplénico y solo entre el 40-50% de los cánceres de colon esporádicos ocurren en esta región (342, 343). El CCR asociado al síndrome de Lynch suele contener LIT y una reacción intensa parecida

a la de la enfermedad de Crohn (infiltrado linfocítico en la periferia del tumor), lo que permite distinguirlo del cáncer de colon esporádico (343, 344). También se suelen encontrar cánceres pobremente diferenciados y son más frecuentes los carcinomas mucinosos que en los cánceres de colon esporádicos (343). A pesar de su apariencia agresiva, la tasa de supervivencia a 5 años en miembros de la familia afectados por este tipo de cáncer de colon tiene un mejor pronóstico que las observadas en el cáncer de colon distal esporádico, lo que sugiere que la historia natural de los pacientes con síndrome de Lynch es diferente a la observada en el cáncer esporádico (345, 346).

1.2.3. Cáncer extracolónico

El tumor extracolónico más frecuente en el síndrome de Lynch es el CE (335). La prevalencia del CE puede variar dependiendo de cuál de los genes reparadores se encuentra mutado, pero se ha publicado que supera el 70% en las mujeres que tienen el gen (335, 347-349). Otras localizaciones con un aumento del riesgo de presentar formación de neoplasias asociadas al síndrome de Lynch incluyen el ovario, estómago, intestino delgado, páncreas, sistema hepatobiliar, renal, pelvis y uréter (350).

La frecuencia de aparición de cáncer extracolónico varía entre el 2-20%. El riesgo acumulativo está relacionado con el MMR específico mutado (350, 351). Existen debates sobre si el cáncer de próstata o de mama deben considerarse parte del síndrome de Lynch, ya que actualmente estos cánceres no se encuentran incluidos como parte del grupo diagnóstico de los cánceres asociados (352).

1.2.4. Síndrome de Muir-Torre y de Turcot como variantes del síndrome

Existen dos variantes del síndrome de Lynch que en el pasado eran consideradas como entidades diferentes. Por un lado, el síndrome de Muir-Torre, que no es más que el síndrome de Lynch asociado a tumores sebáceos, queratoacantomas cutáneos y carcinomas viscerales (353). Por otro lado, el síndrome de Turcot, que refiere al síndrome de Lynch asociado a tumores cerebrales, típicamente gliomas (354). El término síndrome de Turcot también ha sido utilizado para aquellos individuos que forman parte de familias con poliposis adenomatosa y tumores cerebrales (355). Actualmente está claro que no se trata de síndromes diferentes, ya que todos los casos ocurren en familias que presentan mutaciones conocidas en los genes reparadores del ADN (356, 357).

1.2.5. Genética

La magnitud del riesgo de cáncer y algunos aspectos del manejo del síndrome de Lynch varían dependiendo de cuál gen reparador del ADN esté causando la enfermedad (330, 358, 359).

La función del sistema de genes reparadores del ADN es mantener la integridad genómica corrigiendo y sustituyendo los errores y pequeñas deleciones e inserciones que son generadas por errores en los pares de bases nitrogenadas durante la replicación del ADN. La reparación normal requiere la función coordinada de muchos productos de genes diferentes (360, 361).

Los genes reparadores del ADN incluyen (362, 363):

- MSH2, localizado en el cromosoma 2p16.
- MLH1, localizado en el cromosoma 3p21.
- PMS1 y PMS2, localizados en los cromosomas 2q31 y 7p22, respectivamente.
- MSH6, localizado en el cromosoma 2p16.
- Homólogo 3 del mutL (MLH3), un gen reparador de errores que interactúa con MLH1, aunque no estando bien esclarecida su implicación en el síndrome de Lynch.

El sistema de genes reparadores reconoce los errores de los pares de bases nitrogenadas y los repara. El reconocimiento es realizado por dos proteínas heterodiméricas complejas llamadas MutS-alfa y MutS-beta. MutS-alfa es un heterodímero de las proteínas MSH2 y MSH6, mientras que MutS-beta es un heterodímero de las proteínas MSH2 y MSH3. Cualquiera de los dos pares, MSH2/6 o MSH2/3, pueden reconocer inserciones o deleciones que contienen más de dos bases, pero el MSH2/6 reconoce preferiblemente bases solas y pequeñas inserciones o deleciones (364, 365).

Grandes deleciones en el extremo 3' del gen EpCAM (antiguamente llamado TACSTD1) condicionan la inactivación de MSH2. Esto produce un silenciamiento epigenético de las nuevas proteínas durante la transcripción y da lugar al síndrome de Lynch (366, 367).

Los pacientes con HNPCC tienen una mutación en la línea germinal en uno de los alelos de los genes reparadores y el segundo alelo se inactiva por dicha mutación; hay

pérdida de heterocigosidad o silenciamiento epigenético promovido por hipermetilación (368-372).

La inactivación bialélica de los genes reparadores causa un incremento en la tasa de mutaciones debido a la imposibilidad de reparar los errores del ADN que se producen normalmente durante su síntesis (370, 373-376). Estos errores suelen localizarse en regiones de secuencias de nucleótidos repetidos llamados microsatélites. Por lo tanto, una característica de la pérdida de reparación en los tumores es la expansión o contracción de estas regiones de microsatélites en el tumor en comparación con el tejido normal. Esta alteración genética es llamada IMS y es la firma molecular del cáncer en el síndrome de Lynch (377-379).

De los seis diferentes genes reparadores del ADN, las mutaciones en MSH2 o MLH1 ocurren en el 90% de los casos (380), mientras que las de MSH6 representan aproximadamente un 10% (199, 381, 382) y se han reportado solo algunos casos con mutación en PMS2 (383-385).

Se sabe que existen diferencias clínicas sustanciales en el síndrome de Lynch dependiendo de cuál de los genes reparadores tiene mutación en su línea germinal (330, 358, 359). Los hallazgos clínicos descritos en la mayoría de las series de pacientes refieren a familias con mutaciones en MLH1 y MSH2, ya que estas son las que se encuentran más frecuentemente (380).

El riesgo total de presentar cáncer es aproximadamente del 80% y el de presentar cáncer de colon, de 50-70%, siendo similar para familias tanto con mutación en MSH1 como MSH2. Sin embargo, el riesgo de presentar CE o algún otro cáncer extracolónico

parece ser sustancialmente mayor en familias que tienen la mutación en MSH2 (386-392).

El término IMS, como ya se ha mencionado, alude a la expansión o contracción de pequeñas secuencias de ADN que se repiten, lo cual se debe a la pérdida de la reparación normal de los errores del ADN (377-379). Los tumores pueden ser estudiados para determinar la IMS mediante la técnica de PCR, así amplificando un panel estandarizado de una secuencia de nucleótidos del ADN. Si el 30% o más de los marcadores muestran expansión o contracción de una secuencia que se repite en el componente tumoral, en comparación con una de tejido normal del mismo paciente, se reporta que el tumor tiene IMS-H (329, 393-396).

La presencia de IMS-H en el tumor sugiere que existe un defecto en los genes reparadores del ADN. La IMS es muy sensible para el síndrome de Lynch, dado que más del 90% del tejido tumoral de un paciente con síndrome de Lynch tiene IMS-H (397, 398). Es importante destacar que el cáncer asociado a MSH6 puede no tener IMS-H a pesar de que las repeticiones de nucleótidos estén incluidas en la PCR. Algo similar ocurre con PMS2, ya que puede mostrar una tasa más baja de IMS-H en comparación con MLH1 o MSH2 (399-403).

Desafortunadamente, el grado de IMS no puede utilizarse aisladamente para determinar si el paciente sufre síndrome de Lynch, ya que la especificidad de esta prueba es muy baja (404-407). Además, se puede observar IMS en cáncer de colon esporádico en más del 15% de los casos (408). En el grupo de los cánceres esporádicos, la IMS-H es típicamente debido a una pérdida de la reparación del ADN por

hipermetilación de la región promotora de MLH1 (uno de los genes reparadores del ADN) (409-411). La hipermetilación del promotor de MLH1 se debe a un silenciamiento genético del gen (412).

Los dos grupos de cáncer de colon (esporádico y asociado a síndrome de Lynch) pueden diferenciarse evaluando, en el tumor, la existencia de metilación del promotor de MLH1 o, de forma más simple y menos costosa, haciendo análisis genético del gen BRAF (413-415). Por razones aún no esclarecidas, las mutaciones del BRAF están, de forma casi universal, en el cáncer de colon esporádico; por lo tanto, un cáncer de colon con IMS-H y mutaciones en el BRAF descarta casi por completo que se trate de un paciente con síndrome de Lynch (416, 417).

Los tumores IMS-H tienen distintos hallazgos histológicos (LIT, reacción linfocitaria parecida a la del Crohn, diferenciación mucinosa o presencia de células en anillo de sello y patrón de crecimiento medular), los cuales pueden ser utilizados para seleccionar a los pacientes con cáncer de colon que podrían tener síndrome de Lynch y realizarles el test genético. De cualquier manera, el hecho de tener una o más de estas características puede servir de probabilidad predictiva de que el tumor sea IMS-H, pero las características histológicas por sí solas son insuficientes para seleccionar los pacientes a los que se les debe realizar el test genético (418-421).

1.2.6. Inmunohistoquímica y síndrome de Lynch

Las mutaciones en los genes reparadores del ADN que causan el síndrome de Lynch típicamente traen como consecuencia una pérdida de sus productos proteicos (422, 423). Las técnicas de IHQ utilizan anticuerpos contra el extremo C-terminal de las proteínas

reparadoras del ADN que pueden determinarse en los tumores colónicos. La pérdida de inmunorreactividad de MSH2 o MSH6 en el cáncer de colon es altamente específica del síndrome de Lynch. Por su parte, la pérdida de expresión de MLH1 también puede ocurrir en casos esporádicos por hipermetilación del promotor (424-426). De cualquier manera, las técnicas de IHQ se asocian con la determinación de IMS, utilizándose como primera línea de *screening* en individuos que pueden padecer de síndrome de Lynch según las guías de Bethesda (403, 427-429).

En el CE, las técnicas de IHQ han demostrado ser eficaces para identificar pacientes con síndrome de Lynch. A pesar de que la metilación de MLH1 puede causar tumores endometriales epigenéticos, las mutaciones del BRAF no son comunes en el CE, pero las técnicas de IHQ tampoco han sido estudiadas muy rigurosamente en pacientes con otros tumores asociados al síndrome de Lynch. En consecuencia, si hay pérdida de la expresión IHQ se pueden considerar casos sugestivos de síndrome de Lynch, pero si la expresión se conserva no se puede descartar que se trate de pacientes con el síndrome; en consecuencia, los resultados se deben interpretar en el contexto de la historia personal y familiar de la paciente y los hallazgos histológicos en el tumor (33, 37, 430-435).

1.2.7. Identificación de individuos con síndrome de Lynch

Los criterios de Amsterdam son los que se han usado de forma clásica como aproximación clínica para identificar a las familias que tienen un alto riesgo de padecer el síndrome de Lynch y en los que debe considerarse el estudio genético. Sin embargo, uno de sus mayores inconvenientes es su baja sensibilidad (50%, aproximadamente)

(436). Como consecuencia de esto, surgieron los criterios Bethesda en un intento de identificar un mayor número de individuos en riesgo de padecer el síndrome de Lynch. Las guías de Bethesda identifican individuos con cáncer de colon o cualquier otro cáncer asociado al síndrome de Lynch que deben ser estudiados para determinar IMS y considerar estudio genético en aquellos que tengan tumores IMS-H (405, 437).

Se han propuesto muchas otras estrategias para identificar a los individuos en riesgo, incluyendo, entre otras, modelos predictivos, instrumentos de historia familiar y exámenes de rutina de laboratorio en los pacientes con cáncer de colon; sin embargo, su relativa falta de efectividad todavía condiciona discusión (438-441).

Más específicamente, en cuanto a los criterios de Amsterdam, en 1990 el grupo internacional colaborador en HNPCC estableció criterios de revisión para el diagnóstico del síndrome de Lynch (442). Los mismos fueron revisados y modificados en el año 1999, y sus modificaciones dieron lugar a los conocidos criterios de Amsterdam II, los cuales sugieren que el síndrome de Lynch debe ser sospechado en familias (443):

- Con 3 o más familiares con cáncer histológicamente verificado asociado al síndrome de Lynch (cáncer de colon, endometrio, intestino delgado y/o de células transicionales de uréter o pelvis renal), uno de los cuales debe ser un familiar de primer grado de los otros dos y tras descartar una poliposis adenomatosa familiar (PAF).
- Con cánceres asociados al síndrome de Lynch que involucre al menos a 2 generaciones.
- En que al menos 1 caso sea diagnosticado antes de los 50 años.

Los criterios de Amsterdam II pueden ser recordados con la regla 3-2-1: 3 miembros afectados, 2 generaciones, 1 menor de 50 años.

Un individuo que reúna los criterios de Amsterdam será presumiblemente clasificado como portador del síndrome de Lynch. De cualquier manera, se debería realizar un examen molecular de rutina para IMS y pruebas genéticas para confirmar que el paciente presenta síndrome de Lynch, porque con estas pruebas se ha demostrado que muchas de las familias que reúnen los criterios realmente no presentan la mutación genética (407, 444-446). Como resultado, actualmente el síndrome de Lynch se diagnostica únicamente utilizando tests genéticos y se recomienda que el término síndrome de Lynch solo se utilice en individuos y familias que tengan la mutación. Aquellos individuos sin confirmación genética pero que reúnan los criterios se deberían considerar sospechosos de síndrome de Lynch, y manejar como tales, aunque no deben ser catalogados como pacientes con el síndrome hasta no haberlo confirmado mediante hallazgos genéticos (447).

Al menos la mitad de las familias que reúnen los criterios de Amsterdam II no tienen el síndrome de Lynch considerando la definición actual; es decir, no presentan IMS o mutaciones en los genes reparadores del ADN (444, 446). Los pacientes que provengan de familias que cumplan los criterios de Amsterdam II, pero cuyo cáncer de colon no muestre IMS, suelen tener un riesgo general bajo de padecer cáncer y no parecen tener un incremento en el riesgo de padecer CE o algún otro cáncer asociado al síndrome de Lynch. El término cáncer colorrectal familiar tipo X ha sido utilizado para diferenciar estos pacientes de los que presentan síndrome de Lynch (448-450).

En cuanto a las guías de Bethesda, en 1996 un grupo de trabajo se reunió, promovido por el *National Cancer Institute*, y propusieron una serie de guías que posteriormente fueron revisadas en el 2004. Las guías de Bethesda revisadas son una lista de criterios que sugieren el síndrome de Lynch en pacientes con cáncer de colon, incluyendo características tales como CCR en jóvenes o asociación familiar fuerte de cáncer de colon, con o sin otro cáncer asociado al síndrome de Lynch. Estas guías recomiendan estudiar a los pacientes que reúnan los criterios de Bethesda y tengan cáncer de colon para determinar IMS y mutación en los genes reparadores de ADN (451, 452).

Múltiples estudios han evaluado las características de la detección de pacientes con síndrome de Lynch por las guías de Bethesda, demostrándose que tienen una baja especificidad: alrededor del 80% o más de los pacientes que reúne los criterios de Bethesda no sufre de síndrome de Lynch (437, 453-455).

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipotesis

Existe relación entre la IMS y la aparición de cáncer de endometrio antes de los 60 años y dicha IMS se asocia a sus características morfológicas.

2.2 Objetivo general

Determinar la frecuencia de inestabilidad de microsatélites (IMS) en mujeres menores de 60 años con cáncer de endometrio (CE).

2.3 Objetivos específicos

Describir las características histopatológicas de los adenocarcinomas de endometrio asociados a pérdida de expresión de los genes reparadores.

Valorar posibles asociaciones entre la pérdida de expresión de las proteínas codificadas por los genes reparadores de errores en el ADN y las características demográficas e histológicas de los tumores.

Valorar posibles asociaciones la pérdida de expresión de las proteínas codificadas por los genes reparadores de errores en el ADN y las características demográficas e histológicas de los tumores.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Tipo y diseño del estudio

Serie de casos longitudinal retrospectiva.

3.1.1 Selección de casos

El presente estudio se ha realizado sobre 119 muestras de adenocarcinomas de endometrio revisando la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Mostoles entre enero de 1990 y diciembre del 2012. 119 pacientes distintas, todas ellas menores de 60 años en el momento del diagnóstico.

3.1.2- Criterios de inclusión:

- Existencia de una muestra de biopsia con diagnóstico confirmado de adenocarcinoma de endometrio y en cantidad suficiente para realizar técnicas IHQ y moleculares.
- Tener menos de 60 años en el momento del diagnóstico.
- No estar diagnosticadas previamente de síndrome de Lynch o inestabilidad de microsatélites por técnicas de inmunohistoquímica o PCR.
- Otorgar el consentimiento para la participación en el estudio.

3.1.3 Criterios de exclusión:

- Material insuficiente para realizar el estudio histológico.
- Diagnostico histológico de adenocarcinoma de tipo II (no endometriode).

- No cumplir alguno de los criterios de inclusión.

3.2. *Muestras tisulares*

3.2.1. Selección de casos

Se hizo una búsqueda de los casos diagnosticados de adenocarcinoma de endometrio en el período de inclusión en la base de datos PathWin del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Móstoles. Posteriormente se comprobó que las pacientes cumplían los criterios de inclusión y se incluyeron de forma exhaustiva todos los casos que lo hacían, sin muestreo.

Para obtener la información demográfica y los datos de pronóstico se revisaron las historias clínicas de todas las pacientes incluidas en el estudio.

Todas las lesiones endometriales malignas, remitidas por el Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital, estaban fijadas en formol tamponado al 4% y fueron incluidas en parafina, siguiendo protocolos de tallado convencionales del servicio de Anatomía Patológica.

3.2.2. Selección de controles

Para la realización de las micromatrices tisulares (TMA), también se seleccionaron muestras de diferentes tejidos fijados en formol e incluidos en parafina, procedentes del Archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Móstoles, que son necesarias como control de las técnicas de IHQ. Estos controles

correspondieron a tejidos de características histológicas habituales: piel normal, amígdala, ganglio linfático, ocasionalmente hígado y colon.

3.3. Procedimientos de recogida de datos y variables del estudio.

3.3.1. Aspectos clínicos

Se revisaron las historias clínicas de las pacientes con el fin de extraer los datos relevantes respecto a los antecedentes personales de cáncer y la edad de las pacientes.

Las variables incluidas en el estudio fueron:

- Edad en el momento del diagnóstico.
- Antecedentes personales de cáncer y localización de los mismos

3.3.2. Aspectos anatomopatológicos

Para el estudio histopatológico, todas las muestras previamente seleccionadas, fueron inicialmente fijadas en formol al 4%, y posteriormente incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 3 µm que se tiñeron con H-E convencional. Los diagnósticos fueron confirmados de forma independiente por dos patólogos y cualquier discrepancia entre los mismos en el momento de la reevaluación del caso para la selección del mismo, se resolvió por consenso.

Las variables anatomopatológicas convencionales recogidas en el estudio fueron:

- Tipo histológico: I , correspondiente al adenocarcinoma endometrioide clásico.

- Grado de la FIGO: En lo relacionado con el sistema de gradación histológica FIGO, el mismo se fundamenta principalmente en criterios arquitecturales y, secundariamente, en la atipia nuclear. El CE grado 1 se corresponde con glándulas bien definidas y patrón sólido no escamoso < 5%, los grados 2 y 3 diferenciándose del anterior en tanto el componente sólido es del 6-50% y > 50%, respectivamente. Asimismo, el grado de atipia nuclear grave debe provocar el aumento del grado histológico en un punto (468). En la siguiente tabla se resumen las características del sistema de gradación histológica de la FIGO para el CE.

Tabla 2. Características esenciales de los grados histológicos del CE según la FIGO.

Grado histológico	Características
Grado 1	Patrón sólido no escamoso, no morular, < 5%
Grado 2	Patrón sólido no escamoso, no morular, de 6-50%
Grado 3	Patrón sólido no escamoso, no morular, > 50%

Fuente: Pérez-Medina T, San Frutos L, Bajo Arenas JM. Carcinoma del cuerpo uterino. En: Bajo Arenas JM, Lailla Vicens JM, Xercavins Montosa J, editores. Fundamentos de Ginecología (SEGO). SEGO: Madrid; 2009. p. 403-19.

Estadio tumoral:

- Linfocitos intraepiteliales: la valoración se hizo contando 10 campos de 40 aumentos. El punto de corte para considerar el caso como positivo/negativo para este factor fue establecido en superar los 10 linfocitos/campo en 10 campos de gran aumento.

3.3.3. Aspectos inmunohistoquímicos

La selección de las proteínas que se incluyeron en el estudio IHQ se realizó basándose en una revisión extensa y exhaustiva de la literatura, así como en la experiencia y en los trabajos previos de grupos de investigación en relación con las alteraciones moleculares de los CE (28, 75, 117, 168, 191-194). La elección se basó también en la disponibilidad de los anticuerpos por parte de la Sección de Inmunohistoquímica del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Clínico San Carlos.

El estudio IHQ se realizó sobre secciones del material (fijado en formol e incluido en parafina) de 3 µm de grosor, las mismas siendo colocadas sobre portaobjetos cubiertos de forma específica para técnicas de IHQ (DAKO, Glostrup, Dinamarca). Una vez desparafinadas las preparaciones, se rehidrataron utilizando una serie de alcoholes, y se lavaron con *buffer* salino. Se realizó una fase de recuperación antigénica mediante calor en una olla a presión, en una solución de citrato de sodio (1 l de 10 mM, pH 6,5, DAKO), previamente llevada a ebullición (siguiendo el método tradicional; 465) y aclarada con agua corriente. En este momento se realizó el bloqueo de la actividad de la peroxidasa endógena mediante incubación con peróxido de hidrógeno al 1,5% (DAKO) durante 10 min a temperatura ambiente, y posterior lavado con agua destilada.

Para las tinciones IHQ se utilizaron una serie de anticuerpos (4 anticuerpos), los cuales se han clasificado por categorías atendiendo a su principal función biológica o a su mecanismo de acción. La inmunodetección se realizó con anticuerpos secundarios y la visualización con diferentes técnicas según el anticuerpo:

1. Sistema de visualización estreptavidina conjugada con biotina (DAKO), que utiliza peroxidasa-antiperoxidasa como método de inmunodetección y 3,3'-diaminobencidina como cromógeno (preferentemente en marcadores nucleares).
2. Sistema de visualización Envision (DAKO), que utiliza un bloqueante de la peroxidasa como método de inmunodetección y diaminobenzidina. La diferencia de este método radica en el empleo de una molécula sintética, *envision*, *multilink* que favorece la unión múltiple del anticuerpo al antígeno.

Todas las inmunotinciones se realizaron en un aparato automático de inmunotinción (TechMate 500, DAKO, Glostrup, Dinamarca). Se realizaron incubaciones omitiendo el Ag específico como control negativo de la técnica. Todas las preparaciones se contrastaron con hematoxilina (DAKO) y se montaron de la manera habitual.

Se han analizado al menos dos cilindros de tejido de 1,5 mm de diámetro de cada uno de los casos y dos cilindros de cada uno de los controles. Con el fin de garantizar la reproducibilidad del método, se decidió emplear criterios uniformes, claros y contrastados en la literatura para los puntos de corte y métodos de valoración sencillos. Inicialmente, solo se consideraron tres valores en los resultados de IHQ: positivo intenso (+++), positivo leve-moderado (+) y negativo (-), en función del porcentaje de células teñidas en el momento de la evaluación de las muestras, y así se recogieron los datos.

Posteriormente, para simplificar el estudio y homogeneizar los criterios de valoración para los marcadores proteicos utilizados, se agruparon los resultados de IHQ únicamente en dos grupos: valor 0-negativo, y valor 1-positivo (uniendo los casos

positivos leves-moderados y aquellos casos positivos intensos), basándonos en criterios previamente establecidos en la literatura (466, 467).

Todas las preparaciones fueron evaluadas minuciosamente de forma semicuantitativa; se valoró la intensidad de la expresión proteica y el porcentaje de las células positivas. La valoración se hizo sin tener conocimiento de ningún dato clínico. Tampoco se conoció inicialmente la distribución de los cilindros del mismo caso dentro de la matriz tisular. Se valoraron además, como ya se ha comentado, la expresión de los marcadores en células que servían de controles internos tanto en casos como en controles.

Se seleccionaron cuatro anticuerpos, todos ellos con un importante papel en el desarrollo tumoral del CE. Estos marcadores (MSH2, MSH6, MLH1 y PMS2) se han clasificado por categorías.

Las proteínas seleccionadas tienen un papel clave en determinadas funciones biológicas, siendo entre otras (193):

- Alteración del ciclo celular.
- Marcadores de proliferación.
- Evasión de la apoptosis (o muerte celular programada).
- Inestabilidad del ADN del material génico.
- Receptores de membrana que transmiten señales extracelulares.
- Capacidad para infiltración del estroma adyacente.

3.3.4. Aspectos moleculares

La realización de las microatrices tisulares es una labor relativamente sencilla, aunque laboriosa. Los pasos a seguir se resumen en los siguientes subapartados, considerando las descripciones previas de diversos autores (459-464).

3.3.4.1. Selección del material

En cada una de las preparaciones histológicas teñidas con H-E convencional se seleccionaron dos áreas representativas de la lesión con la ayuda del microscopio óptico, buscando aquellas áreas con el máximo volumen de células tumorales. Se marcó con un rotulador el punto correspondiente a la zona elegida.

3.3.4.2. Diseño del TMA

Es uno de los puntos críticos en la realización de esta técnica. Para nuestro estudio se confeccionó una plantilla (modelo a seguir en la construcción de la matriz) con la ayuda de un programa informático (hoja de cálculo de Microsoft Excel), y tomando en cuenta el número de casos que se iban a utilizar (así utilizando la distribución final de los mismos) y los controles en el bloque receptor.

Para favorecer la técnica y homogeneizar la tinción IHQ (mecanismo de capilaridad), se colocaron los controles en los extremos, cuando fue posible. Para tener localizado cada caso, se incluyó un cilindro de referencia y se marcaron unas coordenadas según la fila y la columna, siguiendo la plantilla realizada.

3.3.4.3. Selección del bloque donante

Una vez que se han seleccionado los cortes más representativos de cada caso, se seleccionaron los bloques control en el Archivo del Servicio de Anatomía Patológica. De cada uno de los casos y controles se escogió el bloque que presentaba la mejor relación grosor-representatividad tumoral.

3.3.4.4. Reconstrucción de los bloques donantes

Para intentar homogeneizar al máximo la técnica se rehicieron los bloques seleccionados con el mismo tipo de parafina, intentando igualar el grosor de la misma en todos ellos. También se rehicieron los bloques de los controles. El grosor medio de los bloques donantes utilizados para la construcción del TMA fue de 2 mm.

3.3.4.5. Selección de la zona a pinchar en el bloque donante

Una vez realizada la preparación histológica y considerando el bloque de parafina seleccionado de cada caso, se llevó a cabo la preparación histológica con el bloque de parafina correspondiente y se marcaron las zonas elegidas en el bloque donante con un rotulador, tal y como se hizo previamente sobre las preparaciones histológicas. Sobre los controles se realizó el mismo marcaje de las áreas seleccionadas.

Con las muestras correspondientes a los controles se siguió el mismo procedimiento.

3.3.4.6. Preparación del bloque receptor

La fase de realización de las matrices tisulares se llevó a cabo en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico San Carlos.

Se preparó un bloque de parafina habitual en blanco para utilizar como receptor de las muestras tisulares. Es importante que no existan agujeros en el bloque, específicamente los causados por burbujas de aire (aparecidas durante la preparación del mismo). También es importante alisar la superficie del bloque antes de empezar a insertar los cilindros, mediante leve desgaste de la parafina.

3.3.4.7. Construcción de la matriz

Para su construcción se empleó un Arrayer (Beecham Instruments, Hackensack, USA) dotado de medición digital micrométrica y agujas de 1,5 mm de diámetro. La aguja más gruesa de cada juego es la que hizo el agujero en el bloque donante, mientras que la más pequeña lo hizo en el bloque receptor. Se ajustó la profundidad de descenso de las agujas (aproximadamente 3 mm). Una vez ajustado el bloque receptor en el portabloques, de modo que la superficie del mismo fue paralela a la placa base, se efectuó el agujero correspondiente en el bloque de parafina receptor. A continuación se colocó el bloque donante sobre un puente por encima del portabloques y se cambió la posición de la agujas. Se pinchó el bloque donante, se retiró el puente con el bloque donante y se expulsó el cilindro de tejido exactamente encima del agujero realizado en la parafina, de modo que quedó justo a nivel de la parafina, sin hundirlo.

Este mecanismo es el que debe proseguirse con todos los cilindros hasta la finalización del TMA. De cada bloque seleccionado se tomaron dos cilindros o *cores* (correspondientes a las zonas previamente marcadas), y se colocaron en filas y en columnas, siguiendo la plantilla previamente diseñada, separados unos de otros por una distancia aproximada de 1,5 mm. En total, para nuestro estudio se emplearon 2 bloques

receptores, se construyeron 4 TMA, cada uno de los cuales contenía dos cilindros de cada caso problema y de cada caso control. Tras realizar la técnica, los bloques donantes mostraron una mínima pérdida del volumen tumoral. Una vez terminado el bloque receptor se introdujo en una estufa a 37 °C durante 15 min aproximadamente, lo que facilitó que los cilindros de tejido se adhirieran mejor a la parafina en los agujeros del bloque receptor. De los 4 TMA contruidos para nuestro estudio, todos correspondieron a lesiones endometriales diagnosticadas de adenocarcinomas de endometrio.

3.3.4.8. Corte de los TMA

Se realizaron 3 cortes iniciales de 3 µm cada uno, en cada bloque receptor, empleando para ello la técnica tradicional de microtomía: enfriamiento ligero de los bloques antes de cortarlos, empleando un baño de agua caliente y utilizando portaobjetos xilenados (cargados electrostáticamente). Se descartó desde un principio el uso de sistemas de ayuda para la sección.

Una vez cortados y montados los cristales, se realizó una tinción de H-E y posteriormente el estudio IHQ que se detalla a continuación.

3.3.4.9. Almacenamiento de los cortes

Para proteger los cortes tisulares de la oxidación u otros daños, así como para mantener su antigenicidad poscorte, los portaobjetos se introdujeron en parafina líquida y así se almacenaron. Para su uso inmediato, se eliminó la parafina dejando los portaobjetos en la estufa toda la noche a 56 °C y se introdujeron después en xilol, también en la estufa a 56 °C durante 15-30 min.

Las variables moleculares fueron analizadas como ausencia/presencia de mutaciones en los genes BAT 25 y BAT26.

3.3.5. Almacenamiento de datos

Los datos recogidos de todas las variables clínicas se incluyeron en una base de datos (aplicación informática Microsoft Excel), al igual que los datos histopatológicos y moleculares.

3.4 Realización de PCR a los casos con pérdida de expresión de los genes reparadores.

En los casos en los que existía pérdida de los genes reparadores del DNA por técnicas de IHQ se realizó PCR para verificar si existía inestabilidad de microsatélites.

3.4.1 Manejo de la muestra y extracción del ADN.

Las células microdisecadas son inmediatamente resuspendidas en una solución de digestión enzimática que contiene 10MnTris-HCL, 1Mn EDTA, 1% Tween, 0,1 mg/ml de proteinasa K, Ph8. Esta mezcla se incubaba durante 48 horas a 55° C (temperatura óptima de la proteínasa K).

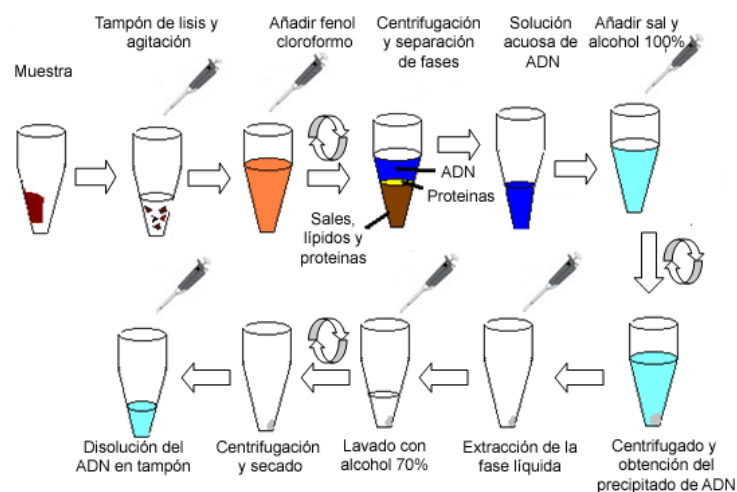
La proteinasa K se encarga de degradar las membranas celulares liberando el ADN de las células.

Después de las 48 horas de incubación se procede a la inactivación de la proteinasa K, la cual se lleva a cabo, introduciendo los tubos en el termociclador a 94° C durante 10 minutos.

Posteriormente se centrifuga durante 10 minutos a 13000 rpm, así se consigue que todos los restos celulares que queden en el fondo del tubo y en el sobrenadante nos quede el ADN.

De una vez extraído del ADN hacemos alícuotas de 1,5 µl de ADN en tubos de PCR para el posterior análisis de los microsatélites. Las alícuotas nos permiten sacar 2 tubos del congelador con la cantidad de ADN que vamos a utilizar en la PCR ya en cada tubo, con esto habitamos congelar y descongelar en varias ocasiones la muestra original de ADN, que se podría degradar.

Esquema de extracción manual de ácidos nucleicos



3.4.2 Cuantificación del ADN, valoración de la calidad del ADN y secuenciación en tiempo real.

El método enzimático in vitro de síntesis y amplificación de una secuencia específica de ADN, es una técnica extremadamente sensible. Gracias a la PCR, la insuficiente

cantidad de ADN ya no es una limitación en la investigación en biología molecular ni en los procedimientos de diagnóstico basado en el estudio del ADN: el segmento de doble cadena que queremos amplificar, y 2 pequeños fragmentos de cadena sencillas, los oligonucleótidos (primers u oligos), que tienen la misma secuencia de los extremos flanqueantes del ADN molde. En la reacción participan la enzima Taq polimerasa (Taq), desoxinucleotidos-trifosfato (dNTPs), sales ($MgCl_2$) y un tampón.

Los oligos se añaden a la reacción en exceso con respecto al ADN y que desea amplificarse e hibridarán con las regiones complementarias en el ADN, quedando orientados con sus extremos 3' enfrentados de modo que la síntesis mediante la polimerasa (cataliza el crecimiento de nuevas cadenas 5' - 3') se extienden a lo largo del segmento de ADN que queda entre ellas.

El primer ciclo de síntesis producirá nuevas cadenas de longitud indeterminada, las cuales, a su vez son capaces de hibridar con los oligos. Este tipo de productos se irá acumulando de forma geométrica, con cada ciclo de síntesis, utilizando como molde las moléculas de ADN paternal de la reacción.

Durante el segundo ciclo de síntesis, estas cadenas ligeras servirán a su vez como moldes, generándose en este caso fragmentos cuyo tamaño será el del fragmento que englobe los extremos de ambos oligos. Estas nuevas cadenas hijas servirán de molde a su vez para sucesivos ciclos de síntesis. La cantidad de estos productos se duplica con cada ciclo, por lo que sirvan acumulando de forma exponencial. Al cabo de 30 ciclos de hibridación han aparecido 270 millones de estas moléculas por cada una de ADN original.

El ADN y de las correspondientes poblaciones de células tumorales, fue amplificado mediante PCR de las regiones de microsatélites.

Se ha determinado MSI usando el panel estandarizado de marcadores de Bethesda. Un panel de cinco marcadores (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, and D17S250), el también llamado “Bethesda mark”.

Marcador	Secuencia de los primers
BAT25	TCG-CCT-CCA-AGA-ATG-TAA-GT
	TCT-GGA-TTT-TAA-CTA-TGG-CTC
BAT26	TGA-CTA-CTT-TTG-ACT-TCA-GCC
	AAC-CAT-TCA-ACA-TTT-TTA-ACC
D2S123	AAA-CAG-GAT-GCC-TGC-CTT-TA
	GGA-CTT-TCC-ACC-TAT-GGG-AC
D5S346	ACT-CAC-TCT-AGT-GAT-AAA-TCG-GG
	AGC-AGA-TAA-GAC-AAG-TAT-TAC-TAG
D17S250	GGA-AGA-ATC-AAA-TAG-ACA-AT
	GCT-GGC-CAT-ATA-TAT-ATT-TAA-ACC

Los “sense primers” se diseñaron marcados con fluorescencia.

La PCR se realizó en un volumen total de 25 µl e incluía:

- 200 µmol/L trifosfato desoxirribonucleico
- 500 nmol/L de cada “sense primer” y “antisense primer”
- 1X PCR buffer (60 mmol/L Tris-SO₄, pH 8.9; 18 mmol/L (NH₄)SO₄; 2 mmol/L MgSO₄)
- 1 unidad DNA polimerasa (Invitrogen, Merelbeke, Belgium).

El producto de la PCR fue analizado por electroforesis por capilaridad utilizando un ABI 310 analizador genético (Applied Biosystems) y un software Genemapper 3.7

La interpretación utilizada fue la siguiente:

- MSI en uno o dos locus se definió como alto riesgo de inestabilidad de microsatélites (MSI-H).
- MSI en un único locus se definió como bajo riesgo de inestabilidad de microsatélites (MSI-L).
- Estabilidad de microsatélites (MSS) se definió cuando no se encontró pérdida en ningún locus.

3.5. Análisis estadístico

Los datos recogidos de todas las variables demográficas e inmunohistoquímicas y moleculares se almacenaron en una base de datos (aplicación informática Microsoft Excel), al igual que los datos histopatológicos y moleculares.

El análisis de los datos se hará con el programa estadístico STATA 11.2 SE.

El análisis estadístico se plantea en dos fases;

Análisis descriptivo: Frecuencias para las variables cualitativas y media (desviación estándar) para las cuantitativas (si cumplían criterios de normalidad) o la mediana (rango) si no los cumplían

Análisis de asociación: Para valorar la asociación entre las variables cualitativas del estudio se planteó la realización de la prueba χ^2 cuadrado, con la corrección de Fisher en caso necesario

La asociación entre las variables cuantitativas se realizó con la correlación de Pearson.

Si fuera preciso comparar valores medios de una variable cuantitativa entre grupos de una cualitativa se empleará t de Student o ANOVA según esté indicado.

Para aquellas variables que no cumplieran criterios de normalidad, se emplearían las correspondientes pruebas no paramétricas.

3.6 Aspectos éticos

El proyecto fue aprobado por el comité de investigación del Hospital de Móstoles, del que proceden los casos. Se elaboró una base de datos anonimizada en cumplimiento de las normas establecidas en la Ley 15/99 de Protección de datos de carácter personal.

4. RESULTADOS

4.1 Análisis descriptivo

4.1.1 Datos demográficos

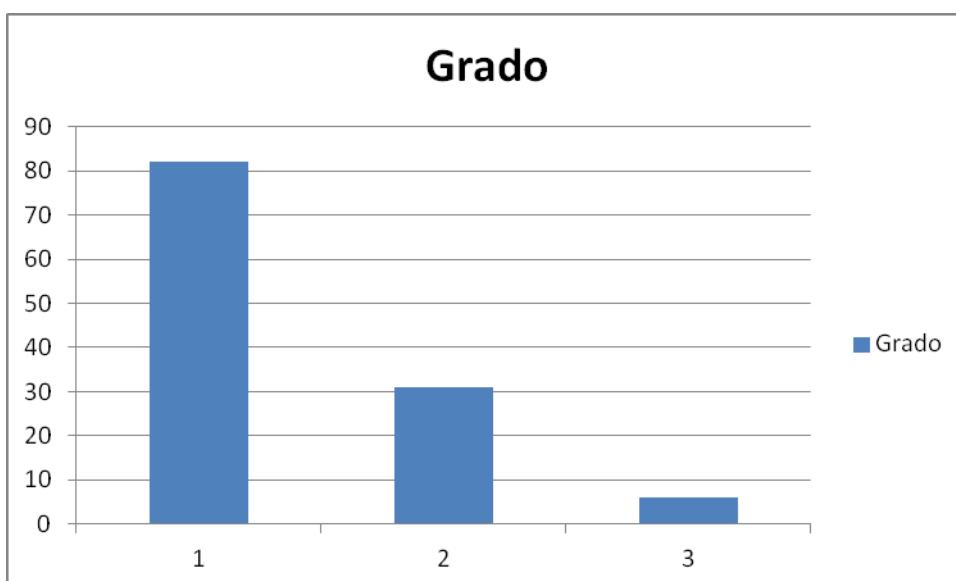
La media de edad de nuestra serie fue 51,95 con un rango de 34 y una desviación estándar de 6,21.

De todas las pacientes estudiadas 13 tenían antecedentes personales de cáncer, 4 casos correspondían a cáncer de mama invasivo, 2 casos a cáncer de colon, un caso a cáncer de esófago, 2 casos a leucemia linfática crónica, 2 a carcinoma epidermoides cutáneos y 2 casos a carcinomas de pulmón.

4.1.2 Datos anatomopatológicos

Todos los casos correspondieron a adenocarcinomas de endometrio de tipo I.

Los grados de la FIGO en nuestra serie mostraron la siguiente distribución, con claro predominio de las lesiones grado 1 (72,2%):



El porcentaje total de casos con LIT en nuestra serie fue del 30,2% de forma conjunta.

4.1.3 Datos inmunohistoquímicos

En conjunto un 81,5% de las pacientes conservaban la expresión normal de las proteínas reparadoras. Del 18,5% de casos (22 pacientes) con pérdida de la expresión, el patrón más habitual fue la pérdida de MLH1/PMS2 (12 casos; 54,5%) seguido de pérdida de MSH2/MSH6 (4 casos; 18,2%), pérdida de MSH6 de forma aislada (4 casos; 18,2%) y un único caso con pérdida de expresión de PMS2 (4,5%) y otro con pérdida de expresión aislada de MSH2 (4,5%).

4.1.4 Datos moleculares

Se realizó PCR a todos los casos que presentaron pérdida de expresión de las proteínas reparadoras por técnica de inmunohistoquímica observándose una correlación de 100% (todos los casos que tenían pérdida de proteínas reparadoras se confirmaron como inestabilidad de microsatélites).

4.2 Análisis de asociación

4.2.1 Análisis relacionados con la expresión de proteínas reparadoras

4.2.1.1 Pérdida de proteínas reparadoras vs edad

En la siguiente tabla se presentan los resultados del análisis de asociación entre la pérdida de proteínas reparadoras y la edad de las pacientes.

Tabla 3. Pérdida de proteínas reparadoras según edad de las pacientes.

Edad	Proteínas reparadoras conservadas	Ausencia de expresión de proteínas reparadoras	Total
26 a 50 años	35	3	38
51 a 60 años	62	19	81
Total	97	22	119

p = 0,046

Nuestros resultados confirman una asociación significativa entre la edad y la pérdida de proteínas. Podemos concluir que la pérdida de proteínas reparadoras del ADN se presenta de manera significativamente mayor en pacientes > 50 años (23,4% frente a 7,8%).

4.2.1.2 Pérdida de proteínas reparadoras vs celularidad inflamatoria

En la siguiente tabla se presentan los resultados del análisis de asociación entre la pérdida de proteínas reparadoras y el estado de la celularidad inflamatoria (presencia o ausencia de LIT).

Tabla 4. Pérdida de proteínas reparadoras según la presencia/ ausencia de LIT.

LIT	Proteínas reparadoras conservadas	Ausencia de expresión de las proteínas reparadoras	Total
Negativo	76	7	83
Positivo	21	15	36
Total	97	22	119

p 0 0.000

.

Interpretando los anteriores datos, se ha confirmado una relación estadísticamente significativa ($p = 0,00$) entre la presencia/ausencia de expresión de proteínas reparadoras y la presencia/ausencia de LIT, lo que nos permite afirmar que la presencia de LIT es significativamente mayor en aquellos casos con pérdida de expresión de proteínas reparadoras.

4.2.1.3. Pérdida de proteínas reparadoras vs antecedentes personales

En la siguiente tabla se analizan los casos con pérdida de proteínas reparadoras en función de los antecedentes familiares de CE.

Tabla 5. Pérdida de proteínas reparadoras según la presencia de antecedentes familiares de CE.

Antecedentes familiares de CE	Proteínas reparadoras conservadas	Pérdida de expresión de proteínas reparadoras	Total
No	85	21	106
Si	12	1	13
Total	97	22	119

p = 0.45

Como muestran los datos nuestro estudio no ha conseguido demostrar una asociación estadísticamente significativa entre la presencia/ ausencia de antecedentes familiares de CE y la expresión de las proteínas reparadoras.

4.2.1.4. Pérdida de proteínas reparadoras vs gradación histológica de la FIGO

En la siguiente tabla se presentan los datos que permitieron evaluar la asociación entre la pérdida de proteínas reparadoras y la gradación histológica según el sistema FIGO.

Tabla 6. Pérdida de proteínas reparadoras según la gradación histológica del sistema FIGO.

Expresión de proteínas reparadoras	Grado 1 de la FIGO	Grado 2 de la FIGO	Grado 3 de la FIGO	Total
Expresión	75	19	3	97
Pérdida de expresión	7	12	3	22
Total	82	31	6	119

p = 0,00

Los datos anteriores hablan a favor de la existencia de una relación estadísticamente significativa (p = 0,00) entre la pérdida de proteínas reparadoras del ADN y el sistema de gradación histológica de la FIGO. De ello se infirió lo siguiente:

- Los carcinomas endometrioides tienden a presentarse con mayor frecuencia en pacientes sin pérdida de proteínas reparadoras del ADN, salvo para los carcinomas endometrioides grado 3 de la FIGO.
- Dentro de los casos con pérdida de expresión de las proteínas reparadoras de ADN, no se ha conseguido demostrar una relación significativa con el sistema de gradación FIGO.

4.2.2 Análisis relacionados con la presencia de inflamación

4.2.2.1. Celularidad inflamatoria vs gradación histológica de la FIGO

En la siguiente tabla se presentan los resultados asociados a la discriminación de la del estado de celularidad inflamatoria (presencia o ausencia de LIT) y el sistema FIGO de gradación del CE.

Tabla 7. Presencia de LIT según la gradación histológica del sistema FIGO.

Till	Grado 1 de la FIGO	Grado 2 de la FIGO	Grado 3 de la FIGO	Total
Negativo	75	8	0	83
Positivo	7	23	6	36
Total	82	31	6	119

p = 0,00

Se puede afirmar:

- La presencia de LIT es significativamente mayor en los carcinomas grado 2 y 3.
- Los carcinomas grado 2 presentan una presencia significativamente mayor de LIT, en comparación con los demás grados.
- La relación entre presencia/ ausencia de LIT y el sistema de gradación histológica de la FIGO no es directamente proporcional, hallando un máximo de LIT en los carcinomas grado 2.

4.2.2.2 Celularidad inflamatoria vs edad

En la siguiente tabla se presentan los datos para valorar la asociación entre la celularidad inflamatoria y la edad de las pacientes.

Tabla 8. Celularidad inflamatoria según edad de las pacientes.

Edad	LIT negativos	LIT positivos	Total
26 a 50 años	30	8	38
51 a 60 años	53	28	81
Total	83	36	119

$p = 0,19$

Nuestros resultados no han conseguido demostrar asociación entre la presencia/ausencia de LIT y las categorías etarias de las pacientes, lo que nos permite deducir:

- La celularidad inflamatoria, al contrario de lo que sucede con la pérdida de proteínas reparadoras de errores en el ADN, no depende de la edad.
- No obstante, los casos con presencia de LIT fueron más frecuentes en las pacientes > 50 años.
- Esto último permite interpretar sobre la posibilidad de una asociación significativa entre la pérdida de proteínas reparadoras del ADN, la celularidad inflamatoria (presencia de TIL) y las pacientes > 50 años, aspecto importante que se debe discutir.

5. DISCUSIÓN

5.1 Aspectos relacionados con la expresión de proteínas reparadoras

5.1.1 Pérdida de proteínas reparadoras vs edad

Respecto de la primera relación significativa entre los casos con pérdida de las proteínas reparadoras y las pacientes > 50 años, en la siguiente tabla se resumen los hallazgos de estudios previos relevantes.

Tabla 9. Resumen de los resultados de estudios publicados sobre la relación entre la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras y las pacientes > 50 años de edad.

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Cook	470	Mayor frecuencia de CE asociado a pérdida de expresión de las proteínas reparadoras de 50-59 años de edad (204 casos), seguido por 60-69 años (170) y > 70 años (68).
Pande	383	Mayor frecuencia de CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en pacientes > 45 años de edad.
Egoavil	20	Mayor frecuencia de CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en pacientes \geq 50 años.
Obermair	471	Mayor frecuencia de CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en pacientes con diagnóstico del carcinoma a los 50 años.

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Hampel	33	Mayor frecuencia de casos con CE y pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociados en pacientes > 50 años.
Hampel	22	Mayor riesgo de diagnóstico de CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en pacientes > 55 años.
Leenen	28	Mayor frecuencia de casos con CE y pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociados en pacientes > 50 años.
Garg	472	Mayor riesgo de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en pacientes \geq 50 años con CE.

Sin embargo, otros tantos estudios han informado un mayor riesgo de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en pacientes < 50 años y con CE (473-476, entre otros).

En este sentido, cabe destacar la necesidad de profundizar en el estudio de la prevalencia del CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en función de los parámetros demográficos de las pacientes, dado que se han obtenido resultados variables (con frecuencia contrapuestos) en lo que respecta a los puntos de corte de edad que determinan un aumento de la frecuencia (\leq 50 años y > 50 años). Esta profundización en el estudio de la cuestión deberá considerar no solo la realización de investigaciones de índole epidemiológica, sino también aquellas en las que se evalúe la validez de puntos de corte etario.

El planteamiento se relaciona directamente con la recomendación de diseñar y realizar procedimientos de *screening* universal, dada la falta de datos certeros sobre la edad como factor pronóstico de CE y de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado.

Esta necesidad se justifica, principalmente, por su alcance en la práctica clínica, siendo que un determinado rango etario podría representar un parámetro de ayuda hacia el diagnóstico de CE con pérdida de expresión de las proteínas reparadoras. Consecuentemente, el alcance se asociaría con la posibilidad de favorecer la supervivencia de las pacientes, dado que el diagnóstico oportuno y certero da lugar a estrategias de intervención temprana y potencialmente más efectiva.

5.1.2 Pérdida de proteínas reparadoras vs celularidad inflamatoria

Respecto de la segunda relación significativa entre los casos con pérdida de expresión de las proteínas reparadoras y la presencia de LIT (celularidad inflamatoria), en la siguiente tabla se presentan los principales hallazgos de algunos antecedentes que avalan esta relación.

Tabla 10. Resumen de resultados de antecedentes sobre la relación entre la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras y la presencia de LIT (celularidad inflamatoria).

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Mills	477	Se confirmó la existencia de LIT en el 23% de los casos con CE y pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado.

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Garg	478	Refirieron a la necesidad de expandir los criterios de Bethesda en lo referido tanto a la morfología (presencia de LIT y heterogeneidad tumoral) y topografía del tumor (localización del segmento uterino inferior), como a la presencia de cáncer de ovario de células claras sincrónico.
Walsh	197	Se observó una mayor y significativa probabilidad de hallar LIT en el tumor en pacientes con CE y pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado, incluso identificando la presencia de los primeros como predictor independiente de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras presuntivo.
Schneider	473	Refirieron el hecho que los LIT (así como las lesiones linfocitarias Crohn-like) se asocian con una elevada probabilidad de presencia en la periferia del tumor en pacientes con CE con pérdida de expresión de las proteínas reparadoras.
Garg	472	Se observó una significativamente mayor presencia de LIT (así como CE desdiferenciado, tumores principalmente ubicados en el segmento uterino inferior y mayor probabilidad de cáncer de ovario de células claras sincrónico) en el grupo con hallazgos IHQ anormales (pérdida de proteínas reparadoras del ADN), en comparación con aquel asociado a resultados normales.
Halvarsson	479	Se observó sobreexpresión de LIT en pacientes con CE

Primer autor	Nº ref.	Resultados
		asociado de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras, así como la pobre diferenciación y reacciones linfocitarias similares a las de la enfermedad de Crohn.

En este sentido, todos los trabajos encontrados permitieron identificar que los casos con CE y pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado poseen una mayor y significativa frecuencia de LIT, lo que se suele acompañar en general, de reacciones similares a las de la enfermedad de Crohn y una pobre diferenciación del carcinoma.

Este perfil histológico de los carcinomas resulta de gran importancia de cara a definir las estrategias terapéuticas de la enfermedad, en este caso siendo necesaria la sensibilización contra antígenos tumorales, contra los cuales luchan (197, 473).

5.1.3 Pérdida de proteínas reparadoras vs antecedentes personales

Respecto de la tercera relación, referente a la ausencia de asociación significativa entre la presencia de antecedentes personales de CE y la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras, en la siguiente tabla se presentan los antecedentes asociados.

Tabla 11. Resumen de resultados de antecedentes sobre la ausencia de relación entre la presencia de antecedentes personales de CE y la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras

Primer autor	Nº ref.	Resultados
--------------	---------	------------

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Mills	477	Se observó que solo el 15% de los pacientes con pérdida de expresión de las proteínas reparadoras presentó antecedentes personales de CE.
Daniels	484	Se observó que solo el 7% de los CE con pérdida de expresión de las proteínas reparadoras presentó antecedentes personales de CCR.
Scheuner	485	Se observó que en individuos sin antecedentes personales de CCR, CE o cáncer ovárico, el 1,1% presentó de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras.
Resnick	431	La evaluación de casos de CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras es inadecuada cuando se fundamenta en los antecedentes personales y familiares.
Garg	472	Se observó una mayor y significativa cantidad de casos de CE asociado a pérdida de expresión de las proteínas reparadoras sin antecedentes personales o familiares (59%).
Domanska	486	Se observó que los individuos con antecedentes personales de CE y pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado no informaron un elevado riesgo percibido sobre tal condición.
Walsh	197	No se observó asociación positiva ni significativa entre los antecedentes personales de cáncer y la presencia de

Primer autor	Nº ref.	Resultados
		CE y de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado, sucediendo lo contrario con los antecedentes familiares.

En este sentido, los trabajos encontrados avalaron la ausencia de relación significativa también encontrada en el presente estudio, afirmando que la presencia de antecedentes personales (enfáticamente, no familiares) de CE no se correlaciona con los casos que presentaron CE y pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado.

Sin embargo, actualmente existe una tendencia hacia la necesidad de reformular las guías de *screening* del CE y el síndrome de Lynch (así como de otros cánceres), recomendando el hacer especial hincapié sobre la estandarización de procedimientos que combinen aspectos clínicos (por ejemplo, antecedentes personales y familiares) y análisis moleculares y de IHQ, con especificidad para detectar tumores con riesgo de pérdida de proteínas reparadoras del ADN. De esta manera, se hace referencia a la potencial reducción de la morbilidad y mortalidad de pacientes con CE y de pérdida de expresión de las proteínas codificadas por los genes reparadores y sus familias (431, 479, 484, 485).

5.1.4 Pérdida de proteínas reparadoras vs gradación histológica de la FIGO

Respecto de la cuarta relación, que indica que la pérdida de proteínas reparadoras del ADN es significativamente más frecuente en casos de CE grado 2 (FIGO), no existe una relación directamente proporcional entre la ausencia/ presencia proteica y los grados 1,

2 y 3 del CE. Al respecto, en la siguiente tabla se presentan los antecedentes relacionados.

Tabla 12. Resumen de resultados de antecedentes sobre la relaciones entre los CE grado 2 y el diagnóstico de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras, y la falta de asociación directamente proporcional entre el segundo y el sistema de gradación de la FIGO.

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Joehlin-Price	487	Se observó que la pérdida de proteínas reparadoras del ADN en CE no se asoció significativamente con el grado de los CE Tipo I y II ni el grado histológico
McCourt	488	Se observó una mayor prevalencia de CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en carcinomas grado 1 y 2.
Karamurzin	489	Se observó una mayor prevalencia de CE asociado a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en carcinomas de menor grado.
Wu	490	Se observó que la expresión de pérdida de proteínas reparadoras del ADN en los CE no se asoció significativamente con el grado ni estadio de los carcinomas.
Broaddus	491	Se observó una tendencia hacia la relación positiva entre carcinomas no endometrioides y la presencia de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras.

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Lu	24	Se observó ausencia de relación significativa entre la presencia de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado a CE y los estadios y tipos de carcinomas.

Sin embargo, otros autores han referenciado una relación directamente proporcional entre el diagnóstico de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras presuntivo y el grado del CE según la FIGO; es decir, a mayor grado o estadio del CE, mayor es la probabilidad de ocurrencia de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras (197, 480, 492-494).

Así, resulta ineludible reconocer la necesidad de indagar con mayor profundidad en el estudio de las correlaciones entre el sistema de gradación de la FIGO y el diagnóstico de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras en pacientes con CE, algo que puede ser útil para determinar con mayor precisión estrategias terapéuticas.

Como puede estipularse, cualquier relación significativa entre variables que caracterizan el perfil clínico e histológico de los tumores podría utilizarse para conocer más la etiología de la enfermedad y, consecuentemente, elaborar estrategias de diagnóstico y tratamiento tempranos más eficaces. En este caso, por ejemplo, puede interpretarse la necesidad de realizar procedimientos de *screening* universal para la pérdida de proteínas reparadoras del ADN en pacientes con CE de cualquier grado histológico y estadio patológico. Además, debe recordarse la naturaleza multifactorial de los parámetros pronósticos de los carcinomas y su asociación con el síndrome de

Lynch. En ese sentido cabe destacar, una asociación significativa entre el IMC de las pacientes y la pérdida de proteínas reparadoras del ADN y el grado y estadio del tumor (487).

5.2 Aspectos relacionados con la presencia de inflamación

5.2.1 Celularidad inflamatoria vs gradación histológica de la FIGO

Respecto de la quinta relación confirmada en nuestro estudio y que indica una asociación significativa entre la presencia de LIT y los CE de grado 2 (según el sistema de la FIGO) asociados a pérdida de expresión de las proteínas reparadoras, en la siguiente tabla se presentan los hallazgos de diversos antecedentes.

Tabla 13. Resumen de resultados de antecedentes sobre la relación entre la presencia de LIT (celularidad inflamatoria) y los CE grado 2 (según la FIGO) asociados a pérdida de expresión de las proteínas reparadoras.

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Garg	480	Considerando el predominio de los CE grado 1 y 2 en los casos evaluados (90%), estando a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras (16%), los LIT se presentaron como una característica muy frecuente, así como un bajo IMC, IMS, pobre diferenciación, origen en el segmento uterino inferior e inferior expresión de los receptores de estrógenos y progesterona.
de Jong	481	Se observó, de manera muy importante, que la presencia

Primer autor	Nº ref.	Resultados
		de LIT [linfocitos T CD8(+) y CD45R0(+), y la proporción CD8(+)/FoxP3(+)] se asoció fuertemente con los factores de buen pronóstico de los CE grado 1 y 2, un elevado número de linfocitos T CD8(+) representando un factor pronóstico independiente para la supervivencia global (OS) de, sobre todo, los CE Tipo II. Así, se concluyó que la fuerte asociación entre la presencia de LIT y el pronóstico de CE indica un importante rol del primero en el sistema inmune ante el diagnóstico del segundo.
Mills	477	Se observó un 23% de LIT sobre una muestra de casos con CE y síndrome de Lynch asociado en la que los tumores fueron grado 1 (40%), grado 2 (34%) y grado 3 (26%).
Brunner	482	Se observó sobreexpresión del ligando B7-H3 en CE Tipo II, ello correlacionándose significativamente con la presencia de TIL.
Walsh	197	Se observó una fuerte asociación entre la presencia de LIT y síndrome de Lynch presuntivo asociado al CE, asociación con mayor significancia en tumores de más elevado grado según la FIGO.
van den Bos	483	Se observó una significativamente mayor presencia de LIT en los CE asociados a síndrome de Lynch (mayormente Tipo II), en comparación con los CE

Primer autor	Nº ref.	Resultados
		esporádicos (100% y 36%, respectivamente).

En este sentido, son pocos los antecedentes que hacen mención de una relación explícita entre los CE grado 2 asociados a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras y la presencia de LIT, aunque la mayoría sí ha permitido corroborar las relaciones entre la presencia de LIT y los CE asociados a pérdida de expresión de las proteínas reparadoras; es decir, sin referencia directa al grado según el sistema de la FIGO.

Más allá de esto último, resulta de gran relevancia que la presencia de LIT podría asociarse con el sistema inmune en los casos con CE y a pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado. Se hace énfasis en los hallazgos sobre el hecho que la presencia de LIT representa un factor pronóstico independiente ante el CE (principalmente la SG), específicamente los linfocitos T CD8(+), aunque también los CD45R0(+) y la proporción CD8(+)/ FoxP3(+) (481). La participación de los LIT en el sistema inmune estaría relacionada, en parte, con la sobreexpresión de B7-H3 (miembro de la familia B7 de ligandos de regulación inmune) en la vasculatura del tumor, siendo que el ligando regula la respuesta inmune periférica mediada por las células T (482).

Además, como podría estipularse, la presencia de LIT hace al perfil histológico de los CE y a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado, así pudiendo utilizarse como parámetro para seleccionar pacientes que necesitan asesoramiento ante el cáncer hereditario o para decidir ante la realización de análisis de IMS o mutación de proteínas reparadoras del ADN.

5.2.2 Celularidad inflamatoria vs edad

Respecto del sexto y último dato analizado en nuestra serie y que indica que la presencia/ausencia de celularidad inflamatoria no se asocia significativamente a la edad de las pacientes, en la siguiente tabla se resumen los trabajos identificados.

Tabla 14. Resumen de resultados de antecedentes sobre la falta de relación significativa entre la presencia/ ausencia de LIT y la edad de las pacientes con CE.

Primer autor	Nº ref.	Resultados
Garg	472	Ausencia de relación entre la presencia/ ausencia de LIT y la edad de pacientes con CE
Halvarsson	479	Se observó falta de correlación significativa entre la edad de pacientes con CE y la presencia/ ausencia de TIL.
Shia	495	Ausencia de correlación significativa entre la presencia de LIT y la edad de pacientes con CE.
Mills	477	Presencia de LIT independiente de la edad de las pacientes con CE.

En realidad, el análisis de la relación entre LIT y edad de pacientes con CE no se presentó de forma explícita y este tema no se abordado ampliamente en la investigación científica. Sobre ello, los comentarios citados de los antecedentes se obtuvieron por un proceso propio de cruzamiento de datos provistos en las investigaciones.

Por su parte, si bien se ha identificado que la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras asociado al CE sí se asocia positiva y significativamente con la presencia de LIT, no se hallaron datos al respecto en los antecedentes.

Relacionado con ello, se recuerda que en el presente estudio se observó que los casos con presencia de LIT se presentaron en mayor y significativa cantidad en las pacientes > 50 años. Esto permite interpretar acerca de la posibilidad de una asociación significativa entre, según datos ya relevados y analizados, el diagnóstico de pérdida de expresión de las proteínas reparadoras, la celularidad inflamatoria y las pacientes > 50 años.

Nuevamente, estos datos epidemiológicos podrían ser de gran utilidad ante el diseño de estrategias de *screening* e intervención del síndrome de Lynch asociado al CE. Recordando, la presencia de LIT cumpliría un papel de gran importancia en la regulación inmune en casos con CE, así interpretando que la detección de estos linfocitos sería recomendable en pacientes de cualquier edad.

6. CONCLUSIONES

El análisis de los datos de 119 pacientes con adenocarcinoma de endometrio de tipo I diagnosticado antes de los 60 años y recogidas en nuestra serie nos permite llegar a las siguientes conclusiones.

- El 18% de los casos de pacientes menores de 60 años con adenocarcinoma de endometrio estudiados presentó pérdida de expresión de las proteínas reparadoras de ADN evaluadas por técnicas de inmunohistoquímica.
- El patrón más frecuente ha sido la pérdida combinada de MLH1/PMS2 (54,5% de los casos con pérdida de expresión), seguido de la pérdida combinada de MSH2/MSH6 (18,2%) o aislada de MSH6 (18,2%), en concordancia con lo descrito en la bibliografía revisada.
- Esta pérdida de expresión se confirmó en el 100% de los casos con las técnicas de PCR, confirmando la validez de la inmunohistoquímica como herramienta de screening inicial (por su mayor disponibilidad y menor coste)
- Los adenocarcinomas de endometrio más frecuentemente asociados a pérdida de expresión proteica de los genes reparadores del ADN fueron los adenocarcinomas endometrioides con presencia de LIT.
- El presente estudio no ha conseguido demostrar una relación estadísticamente significativa entre los antecedentes personales de las pacientes con adenocarcinoma endometrioide y la pérdida de expresión de proteínas reparadoras.

- Los adenocarcinomas de endometrio mas frecuentemente asociados a perdida de expresión proteica de los genes reparadores del ADN fueron los adenocarcinomas endometrioides grado 2 de la FIGO.
- Existe una asociación significativa entre la presencia de LIT y los CE de grado 2 (según el sistema de la FIGO) asociados a pérdida de expresión de las proteínas reparadoras.
- La presencia/ausencia de celularidad inflamatoria no se asocia significativamente a la edad de las pacientes en este estudio.

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1).Organización Mundial de la Salud (OMS). Constitución de la Organización Mundial de la Salud. Nueva York: OMS; 1946.
- (2).Gaviria AM, Vinaccia S, Riveros MaF, Quiceno JM. Calidad de vida relacionada con la salud, afrontamiento del estrés y emociones negativas en pacientes con cáncer en tratamiento quimioterapéutico. *Psicología desde el Caribe*. 2007;20:50-75.
- (3).Boyle P, Levin B, editors. World Cancer Report 2008. Lyon, Francia: International Agency for Research on Cancer; 2008.
- (4).Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *Int J Cancer*. 2013;132(5):1133-45.
- (5).Pfeiffer RM, Park Y, Kreimer AR, Lacey JV Jr, Pee D, Greenlee RT, et al. Risk prediction for breast, endometrial, and ovarian cancer in white women aged 50 y or older: derivation and validation from population-based cohort studies. *PLoS Med*. 2013;10(7):e1001492.
- (6).Long B, Liu FW, Bristow RE. Disparities in uterine cancer epidemiology, treatment, and survival among African Americans in the United States. *Gynecol Oncol*. 2013;130(3):652-9.
- (7).Linkov F, Taioli E. Factors influencing endometrial cancer mortality: the Western Pennsylvania Registry. *Future Oncol*. 2008;4(6):857-65.
- (8).Brinton LA, Westhoff CL, Scoccia B, Lamb EJ, Trabert B, Niwa S, et al. Fertility drugs and endometrial cancer risk: results from an extended follow-up of a large infertility cohort. *Hum Reprod*. 2013;28(10):2813-21.
- (9).Dieli-Conwright CM, Ma H, Lacey JV Jr, Henderson KD, Neuhausen S, Horn-Ross PL, et al. Long-term and baseline recreational physical activity and risk

- of endometrial cancer: the California Teachers Study. *Br J Cancer*. 2013;109(3):761-8.
- (10). Setiawan VW, Yang HP, Pike MC, McCann SE, Yu H, Xiang YB, et al.; Australian National Endometrial Cancer Study Group, et al. Type I and II endometrial cancers: have they different risk factors? *J Clin Oncol*. 2013;31(20):2607-18.
 - (11). Amankwah EK, Friedenreich CM, Magliocco AM, Brant R, Courneya KS, Speidel T, et al. Anthropometric measures and the risk of endometrial cancer, overall and by tumor microsatellite status and histological subtype. *Am J Epidemiol*. 2013;177(12):1378-87.
 - (12). Fedirko V, Jenab M, Rinaldi S, Biessy C, Allen NE, Dossus L, et al. Alcohol drinking and endometrial cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Ann Epidemiol*. 2013;23(2):93-8.
 - (13). Cecere SC, Pisano C, Bamias A, Di Napoli M, Rossetti S, Facchini G, et al. Multidisciplinary treatment of early stage endometrial cancer. *Anticancer Agents Med Chem*. 2013;13(6):861-71.
 - (14). Lu KH. Management of early-stage endometrial cancer. *Semin Oncol*. 2009;36(2):137-44.
 - (15). Croog VJ, Abu-Rustum NR, Barakat RR, Alektiar KM. Adjuvant radiation for early stage endometrial cancer with lymphovascular invasion. *Gynecol Oncol*. 2008;111(1):49-54.
 - (16). Sonoda Y. Optimal therapy and management of endometrial cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2003;3(1):37-47.

- (17). Elit L. Endometrial cancer. Prevention, detection, management, and follow up. *Can Fam Physician*. 2000;46:887-92.
- (18). Bats AS, Bensaid C, Huchon C, Metzger U, Le Frère-Belda MA, Buecher B, et al. Cáncer de endometrio en el síndrome de Lynch. *EMC*. 2012;48(3):1-9.
- (19). Montalvo Esquivel G, Isla Ortiz D, Solorza Luna G, Cantú de León DF, González Enciso A, Muñoz González DE, et al. Oncoguía. Cáncer de endometrio. México, D. F.: Instituto Nacional de Cancerología.
- (20). Egoavil C, Alenda C, Castillejo A, Paya A, Peiro G, Sánchez-Heras AB, et al. Prevalence of Lynch Syndrome among Patients with Newly Diagnosed Endometrial Cancers. *PLoS One*. 2013;8(11):e79737.
- (21). Ketabi Z, Mosgaard BJ, Gerdes AM, Ladelund S, Bernstein IT. Awareness of endometrial cancer risk and compliance with screening in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Obstet Gynecol*. 2012;120(5):1005-12.
- (22). Hampel H, Stephens JA, Pukkala E, Sankila R, Aaltonen LA, Mecklin JP, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: later age of onset. *Gastroenterology*. 2005;129(2):415-21.
- (23). Yoon SN, Ku JL, Shin YK, Kim KH, Choi JS, Jang EJ, et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer in endometrial cancer patients. *Int J Cancer*. 2008;122(5):1077-81.
- (24). Lu KH, Schorge JO, Rodabaugh KJ, Daniels MS, Sun CC, Soliman PT, et al. Prospective determination of prevalence of lynch syndrome in young women with endometrial cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(33):5158-64.
- (25). Ramírez-Moreno R, Rodríguez FG, Bilbao C, Falcón O, León L, Díaz-Chico BN, et al. La inestabilidad microsatélite y la hipermetilación del promotor

MLH1 se asocian con la aparición tardía del cáncer de endometrio. VECTOR Plus. 2002;27:55-61.

- (26). Bats AS, Roussel H, Narjoz C, Le Frere-Belda MA, Chamming's F, Blons H, et al. Microsatellite instability analysis for the screening of synchronous endometrial and ovarian cancer in Lynch syndrome. Anticancer Res. 2013;33(9):3977-81.
- (27). Mercado RC, Hampel H, Kastrinos F, Steyerberg E, Balmana J, Stoffel E, et al.; Colon Cancer Family Registry. Performance of PREMM(1,2,6), MMRpredict, and MMRpro in detecting Lynch syndrome among endometrial cancer cases. Genet Med. 2012;14(7):670-80.
- (28). Leenen CH, van Lier MG, van Doorn HC, van Leerdam ME, Kooi SG, de Waard J, et al. Prospective evaluation of molecular screening for Lynch syndrome in patients with endometrial cancer ≤ 70 years. Gynecol Oncol. 2012;125(2):414-20.
- (29). Bartley AN, Luthra R, Saraiya DS, Urbauer DL, Broaddus RR. Identification of cancer patients with Lynch syndrome: clinically significant discordances and problems in tissue-based mismatch repair testing. Cancer Prev Res (Phila). 2012;5(2):320-7.
- (30). Ryan P, Mulligan AM, Aronson M, Ferguson SE, Bapat B, Semotiuk K, et al. Comparison of clinical schemas and morphologic features in predicting Lynch syndrome in mutation-positive patients with endometrial cancer encountered in the context of familial gastrointestinal cancer registries. Cancer. 2012;118(3):681-8.

- (31). Ramsoekh D, Wagner A, van Leerdam ME, Dinjens WN, Steyerberg EW, Halley DJ, et al. A high incidence of MSH6 mutations in Amsterdam criteria II-negative families tested in a diagnostic setting. *Gut*. 2008;57(11):1539-44.
- (32). Vasen HF. Review article: The Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26 Suppl 2:113-26.
- (33). Hampel H, Frankel W, Panescu J, Lockman J, Sotamaa K, Fix D, et al. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res*. 2006;66(15):7810-7.
- (34). Bilbao C, Lara PC, Ramírez R, Henríquez-Hernández LA, Rodríguez G, Falcón O, et al. Microsatellite instability predicts clinical outcome in radiation-treated endometrioid endometrial cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010;76(1):9-13.
- (35). Planck M, Rambech E, Möslin G, Müller W, Olsson H, Nilbert M. High frequency of microsatellite instability and loss of mismatch-repair protein expression in patients with double primary tumors of the endometrium and colorectum. *Cancer*. 2002;94(9):2502-10.
- (36). Walsh CS, Blum A, Walts A, Alsabeh R, Tran H, Koeffler HP, et al. Lynch syndrome among gynecologic oncology patients meeting Bethesda guidelines for screening. *Gynecol Oncol*. 2010;116(3):516-21.
- (37). Vasen HF, Hendriks Y, de Jong AE, van Puijenbroek M, Tops C, Bröcker-Vriends AH, et al. Identification of HNPCC by molecular analysis of colorectal and endometrial tumors. *Dis Markers*. 2004;20(4-5):207-13.

- (38). Kouraklis G, Misiakos EP. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome): criteria for identification and management. *Dig Dis Sci.* 2005;50(2):336-44.
- (39). Elit L. Endometrial cancer. Prevention, detection, management, and follow up. *Can Fam Physician.* 2000;46:887-92.
- (40). Canavan TP, Doshi NR. Endometrial cancer. *Am Fam Physician.* 1999;59(11):3069-77.
- (41). Cramer DW. The epidemiology of endometrial and ovarian cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2012;26(1):1-12.
- (42). Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1983;15(1):10-7.
- (43). Deligdisch L, Holinka CF. Endometrial carcinoma: two diseases? *Cancer Detect Prev.* 1987;10(3-4):237-46.
- (44). American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures.* 2008. Atlanta, EE.UU.: American Cancer Society; 2008.
- (45). International Agency for Research on Cancer. *GLOBOCAN 2012. Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.* 2014. Disponible en: URL: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>
- (46). Merrill RM. Impact of hysterectomy and bilateral oophorectomy on race-specific rates of corpus, cervical, and ovarian cancers in the United States. *Ann Epidemiol.* 2006;16(12):880-7.
- (47). Wong CA, Jim MA, King J, Tom-Orme L, Henderson JA, Saraiya M, et al. Impact of hysterectomy and bilateral oophorectomy prevalence on rates of

- cervical, uterine, and ovarian cancer among American Indian and Alaska Native women, 1999-2004. *Cancer Causes Control*. 2011;22(12):1681-9.
- (48). Brinton LA, Berman ML, Mortel R, Twiggs LB, Barrett RJ, Wilbanks GD, et al. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;167(5):1317-25.
- (49). Xu WH, Xiang YB, Ruan ZX, Zheng W, Cheng JR, Dai Q, et al. Menstrual and reproductive factors and endometrial cancer risk: Results from a population-based case-control study in urban Shanghai. *Int J Cancer*. 2004;108(4):613-9.
- (50). Henderson BE, Casagrande JT, Pike MC, Mack T, Rosario I, Duke A. The epidemiology of endometrial cancer in young women. *Br J Cancer*. 1983;47(6):749-56.
- (51). Wernli KJ, Ray RM, Gao DL, De Roos AJ, Checkoway H, Thomas DB. Menstrual and reproductive factors in relation to risk of endometrial cancer in Chinese women. *Cancer Causes Control*. 2006;17(7):949-55.
- (52). Dossus L, Allen N, Kaaks R, Bakken K, Lund E, Tjønneland A, et al. Reproductive risk factors and endometrial cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer*. 2010;127(2):442-51.
- (53). Lambe M, Wu J, Weiderpass E, Hsieh CC. Childbearing at older age and endometrial cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control*. 1999;10(1):43-9.
- (54). Pfeiffer RM, Mitani A, Landgren O, Ekblom A, Kristinsson SY, Björkholm M, et al. Timing of births and endometrial cancer risk in Swedish women. *Cancer Causes Control*. 2009;20(8):1441-9.

- (55). Hinkula M, Pukkala E, Kyyrönen P, Kauppila A. Grand multiparity and incidence of endometrial cancer: a population-based study in Finland. *Int J Cancer*. 2002;98(6):912-5.
- (56). Newcomb PA, Trentham-Dietz A. Breast feeding practices in relation to endometrial cancer risk, USA. *Cancer Causes Control*. 2000;11(7):663-7.
- (57). Okamura C, Tsubono Y, Ito K, Niikura H, Takano T, Nagase S, et al. Lactation and risk of endometrial cancer in Japan: a case-control study. *Tohoku J Exp Med*. 2006;208(2):109-15.
- (58). Rosenblatt KA, Thomas DB. Prolonged lactation and endometrial cancer. WHO Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. *Int J Epidemiol*. 1995;24(3):499-503.
- (59). Maxwell GL, Schildkraut JM, Calingaert B, Risinger JI, Dainty L, Marchbanks PA, et al. Progestin and estrogen potency of combination oral contraceptives and endometrial cancer risk. *Gynecol Oncol*. 2006;103(2):535-40.
- (60). Voigt LF, Deng Q, Weiss NS. Recency, duration, and progestin content of oral contraceptives in relation to the incidence of endometrial cancer (Washington, USA). *Cancer Causes Control*. 1994;5(3):227-33.
- (61). Schlesselman JJ. Risk of endometrial cancer in relation to use of combined oral contraceptives. A practitioner's guide to meta-analysis. *Hum Reprod*. 1997;12(9):1851-63.
- (62). Weiderpass E, Adami HO, Baron JA, Magnusson C, Lindgren A, Persson I. Use of oral contraceptives and endometrial cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control*. 1999;10(4):277-84.

- (63). Beining RM, Dennis LK, Smith EM, Dokras A. Meta-analysis of intrauterine device use and risk of endometrial cancer. *Ann Epidemiol.* 2008;18(6):492-9.
- (64). Tao MH, Xu WH, Zheng W, Zhang ZF, Gao YT, Ruan ZX, et al. Oral contraceptive and IUD use and endometrial cancer: a population-based case-control study in Shanghai, China. *Int J Cancer.* 2006;119(9):2142-7.
- (65). Hubacher D, Grimes DA. Noncontraceptive health benefits of intrauterine devices: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv.* 2002;57(2):120-8.
- (66). Castellsague X, Thompson WD, Dubrow R. Tubal sterilization and the risk of endometrial cancer. *Int J Cancer.* 1996;65(5):607-12.
- (67). Kjaer SK, Mellemkjaer L, Brinton LA, Johansen C, Gridley G, Olsen JH. Tubal sterilization and risk of ovarian, endometrial and cervical cancer. A Danish population-based follow-up study of more than 65 000 sterilized women. *Int J Epidemiol.* 2004;33(3):596-602.
- (68). Rosenblatt K, Thomas D. Association between tubal ligation and endometrial cancer. *Int J Cancer.* 1997;71(1):129-30.
- (69). Beral V, Bull D, Reeves G; Million Women Study Collaborators. Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet.* 2005;365(9470):1543-51.
- (70). Grady D, Gebretsadik T, Kerlikowske K, Ernster V, Petitti D. Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 1995;85(2):304-13.
- (71). Lacey JV Jr, Brinton LA, Lubin JH, Sherman ME, Schatzkin A, Schairer C. Endometrial carcinoma risks among menopausal estrogen plus progestin and

- unopposed estrogen users in a cohort of postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(7):1724-31.
- (72). Pike MC, Peters RK, Cozen W, Probst-Hensch NM, Felix JC, Wan PC, et al. Estrogen-progestin replacement therapy and endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(15):1110-6.
- (73). Weiderpass E, Adami HO, Baron JA, Magnusson C, Bergström R, Lindgren A, et al. Risk of endometrial cancer following estrogen replacement with and without progestins. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(13):1131-7.
- (74). Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(8):579-91.
- (75). Osório-Costa F, Rocha GZ, Dias MM, Carvalheira JB. Epidemiological and molecular mechanisms aspects linking obesity and cancer. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009;53(2):213-26.
- (76). Swanson CA, Potischman N, Wilbanks GD, Twiggs LB, Mortel R, Berman ML, et al. Relation of endometrial cancer risk to past and contemporary body size and body fat distribution. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1993;2(4):321-7.
- (77). Xu WH, Matthews CE, Xiang YB, Zheng W, Ruan ZX, Cheng JR, et al. Effect of adiposity and fat distribution on endometrial cancer risk in Shanghai women. *Am J Epidemiol.* 2005;161(10):939-47.
- (78). Weiderpass E, Persson I, Adami HO, Magnusson C, Lindgren A, Baron JA. Body size in different periods of life, diabetes mellitus, hypertension, and risk of postmenopausal endometrial cancer (Sweden). *Cancer Causes Control.* 2000;11(2):185-92.

- (79). Zhang Y, Liu H, Yang S, Zhang J, Qian L, Chen X. Overweight, obesity and endometrial cancer risk: results from a systematic review and meta-analysis. *Int J Biol Markers*. 2013; En prensa.
- (80). Gu W, Chen C, Zhao KN. Obesity-associated endometrial and cervical cancers. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2013;5:109-18.
- (81). Escobedo LG, Lee NC, Peterson HB, Wingo PA. Infertility-associated endometrial cancer risk may be limited to specific subgroups of infertile women. *Obstet Gynecol*. 1991;77(1):124-8.
- (82). Wild S, Pierpoint T, Jacobs H, McKeigue P. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome: results of a 31 year follow-up study. *Hum Fertil (Camb)*. 2000;3(2):101-105.
- (83). Kousta E, Tolis G, Franks S. Polycystic ovary syndrome. Revised diagnostic criteria and long-term health consequences. *Hormones (Athens)*. 2005;4(3):133-47.
- (84). Persson I, Adami HO, McLaughlin JK, Naessén T, Fraumeni JF Jr. Reduced risk of breast and endometrial cancer among women with hip fractures (Sweden). *Cancer Causes Control*. 1994;5(6):523-8.
- (85). Newcomb PA, Trentham-Dietz A, Egan KM, Titus-Ernstoff L, Baron JA, Storer BE, et al. Fracture history and risk of breast and endometrial cancer. *Am J Epidemiol*. 2001;153(11):1071-8.
- (86). Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Foulkes WD, Gordon C, Clarke AE. Breast, ovarian, and endometrial malignancies in systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2011;104(9):1478-81.

- (87). Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Labrecque J, Joseph L, Boivin JF, Petri M, et al. Cancer risk in systemic lupus: an updated international multi-centre cohort study. *J Autoimmun.* 2013;42:130-5.
- (88). Bernatsky S, Kale M, Ramsey-Goldman R, Gordon C, Clarke AE. Systemic lupus and malignancies. *Curr Opin Rheumatol.* 2012;24(2):177-81.
- (89). Ali AT. Risk factors for endometrial cancer. *Ceska Gynekol.* 2013;78(5):448-59.
- (90). Yang HP, Brinton LA, Platz EA, Lissowska J, Lacey JV Jr, Sherman ME, et al. Active and passive cigarette smoking and the risk of endometrial cancer in Poland. *Eur J Cancer.* 2010;46(4):690-6.
- (91). Polesel J, Serraino D, Zucchetto A, Lucenteforte E, Dal Maso L, Levi F, et al. Cigarette smoking and endometrial cancer risk: the modifying effect of obesity. *Eur J Cancer Prev.* 2009;18(6):476-81.
- (92). Zhou B, Yang L, Sun Q, Cong R, Gu H, Tang N, et al. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Am J Med.* 2008 Jun;121(6):501-8.
- (93). Al-Zoughool M, Dossus L, Kaaks R, Clavel-Chapelon F, Tjønneland A, Olsen A, et al. Risk of endometrial cancer in relationship to cigarette smoking: results from the EPIC study. *Int J Cancer.* 2007;121(12):2741-7.
- (94). Terry PD, Rohan TE, Franceschi S, Weiderpass E. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer. *Lancet Oncol.* 2002;3(8):470-80.
- (95). Crawford L, Reeves KW, Luisi N, Balasubramanian R, Sturgeon SR. Perineal powder use and risk of endometrial cancer in postmenopausal women. *Cancer Causes Control.* 2012;23(10):1673-80.

- (96). Karageorgi S, Gates MA, Hankinson SE, De Vivo I. Perineal use of talcum powder and endometrial cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(5):1269-75.
- (97). John EM, Koo J, Horn-Ross PL. Lifetime physical activity and risk of endometrial cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(5):1276-83.
- (98). Matthews CE, Xu WH, Zheng W, Gao YT, Ruan ZX, Cheng JR, et al. Physical activity and risk of endometrial cancer: a report from the Shanghai endometrial cancer study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(4):779-85.
- (99). Friedenreich CM, Cook LS, Magliocco AM, Duggan MA, Courneya KS. Case-control study of lifetime total physical activity and endometrial cancer risk. *Cancer Causes Control.* 2010;21(7):1105-16.
- (100). Arem H, Irwin ML, Zhou Y, Lu L, Risch H, Yu H. Physical activity and endometrial cancer in a population-based case-control study. *Cancer Causes Control.* 2011;22(2):219-26.
- (101). Berek JS, Hacker NF, editors. *Practical gynecologic oncology.* 2a ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994.
- (102). Francz M. The premalignant disease of the endometrium: endometrial intraepithelial neoplasia. *Magy Onkol.* 2008;52(1):35-40.
- (103). Mutter GL. Histopathology of genetically defined endometrial precancers. *Int J Gynecol Pathol.* 2000;19(4):301-9.
- (104). Rijo GJ, Rodríguez R. Cáncer de endometrio. En: Rodríguez R, Pantiga RA, Rijo GJ, Querejeta Recalde A, editores. *Cáncer ginecológico.* Asturias, España: Universidad de Oviedo; 1994. p. 47-68.

- (105). Celorio JA, Calero F, Armas A. Fundamentos de oncología ginecológica. Bilbao, España: Díaz de Santos; 1986.
- (106). Ioffe OB. Recent developments and selected diagnostic problems in carcinomas of the endometrium. *Am J Clin Pathol*. 2005;124 Suppl:S42-51.
- (107). Tangjitgamol S, Srijaipracharoen S, Manusirivithaya S, Khunnarong J, Pataradool K, Thavaramara T. Endometrial carcinoma: clinical characteristic and survival rates by the new compared to the prior FIGO staging systems. *J Med Assoc Thai*. 2013;96(5):505-12.
- (108). Freeman SJ, Aly AM, Kataoka MY, Addley HC, Reinhold C, Sala E. The revised FIGO staging system for uterine malignancies: implications for MR imaging. *Radiographics*. 2012;32(6):1805-27.
- (109). Kato T, Watari H, Endo D, Mitamura T, Odagiri T, Konno Y, et al. New revised FIGO 2008 staging system for endometrial cancer produces better discrimination in survival compared with the 1988 staging system. *J Surg Oncol*. 2012;106(8):938-41.
- (110). Box A, Raj G, Otton G, Bonaventura A, Scurry J. Hybrid endometrial carcinoma with short non-villous papillae and serous papillary carcinoma. *Pathology*. 2010;42(1):97-9.
- (111). Murray SK, Young RH, Scully RE. Uterine Endometrioid Carcinoma with Small Nonvillous Papillae: An Analysis of 26 Cases of a Favorable-Prognosis Tumor To Be Distinguished from Serous Carcinoma. *Int J Surg Pathol*. 2000;8(4):279-289.
- (112). Toomine Y, Watanabe S, Ohishi Y, Tamiya S, Sugishima S, Kobayashi H, et al. Endometrial metaplasia: correlation of histological and cytological

specimens obtained from 103 cases undergoing hysterectomy for endometrial carcinoma. *Cytopathology*. 2013; En prensa.

- (113). Fukuda M, Sakurai N, Yamamoto Y, Taoka H, Asakawa Y, Kurasaki A, et al. Case of atypical polypoid adenomyoma that possibly underwent a serial progression from endometrial hyperplasia to carcinoma. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011;37(5):468-71.
- (114). McKenney JK, Longacre TA. Low-grade endometrial adenocarcinoma: a diagnostic algorithm for distinguishing atypical endometrial hyperplasia and other benign (and malignant) mimics. *Adv Anat Pathol*. 2009;16(1):1-22.
- (115). Suárez-Vilela D, Izquierdo-García FM. Foamy cells in endometrial stromal tumours: not all of them are histiocytes. *Histopathology*. 2003;42(3):304-5.
- (116). Silver SA, Sherman ME. Morphologic and immunophenotypic characterization of foam cells in endometrial lesions. *Int J Gynecol Pathol*. 1998;17(2):140-5.
- (117). Abal M, Llauradó M, Doll A, Monge M, Colas E, González M, et al. Molecular determinants of invasion in endometrial cancer. *Clin Transl Oncol*. 2007;9(5):272-7.
- (118). Szabó I, Szánthó A, Németh J, Csapó Z, Szirmai K, Papp Z. Assessment of myometrial invasion in endometrial cancer by transvaginal ultrasonography. *Orv Hetil*. 1997;138(21):1323-7.
- (119). Tamai K, Koyama T, Umeoka S, Saga T, Fujii S, Togashi K. Spectrum of MR features in adenomyosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2006;20(4):583-602.

- (120). Nascimento AF, Hirsch MS, Cviko A, Quade BJ, Nucci MR. The role of CD10 staining in distinguishing invasive endometrial adenocarcinoma from adenocarcinoma involving adenomyosis. *Mod Pathol*. 2003;16(1):22-7.
- (121). Ohishi Y, Kaku T, Kobayashi H, Aishima S, Umekita Y, Wake N, et al. CD10 immunostaining distinguishes atypical polypoid adenomyofibroma (atypical polypoid adenomyoma) from endometrial carcinoma invading the myometrium. *Hum Pathol*. 2008;39(10):1446-53.
- (122). Crissman JD, Azoury RS, Barnes AE, Schellhas HF. Endometrial carcinoma in women 40 years of age or younger. *Obstet Gynecol*. 198;57(6):699-704.
- (123). Holm NS, Glintborg D, Andersen MS, Schledermann D, Ravn P. The prevalence of endometrial hyperplasia and endometrial cancer in women with polycystic ovary syndrome or hyperandrogenism. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2012;91(10):1173-6.
- (124). Elliott JL, Hosford SL, Demopoulos RI, Perloe M, Sills ES. Endometrial adenocarcinoma and polycystic ovary syndrome: risk factors, management, and prognosis. *South Med J*. 2001;94(5):529-31.
- (125). Park JK, Lee JI, Kim DC, Jo HC, Shin JK, Lee SA, et al. Endometrial carcinoma in a patient having 45,X Turner syndrome with gonadal mosaicism. *J Obstet Gynaecol Res*. 2008;34(4 Pt 2):745-8.
- (126). Auranen A, Joutsiniemi T. A systematic review of gynecological cancer surveillance in women belonging to hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) families. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2011;90(5):437-44.

- (127). Wang YM, Zhu YB, Xue FX, Liu ZY. Clinicopathological characteristics in hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma-associated endometrial carcinoma. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2008;43(4):286-9.
- (128). Pekin T, Yildizhan B, Eren F, Pekin O, Yildizhan R. Adenocarcinoma, adenoacanthoma, and mixed adenosquamous carcinoma of the endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2001;22(2):151-3.
- (129). Imura J, Tomita S, Ono Y, Inaba F, Yamazaki T, Fukasawa I, et al. Endometrial adenosquamous carcinoma with osteoclast-like giant cells: immunohistochemistry and histogenesis. *APMIS*. 2005;113(2):140-4.
- (130). Hayes MM, Matisic JP, Chen CJ, Mohamed A, Anderson GH, LeRiche JC, et al. Cytological aspects of uterine cervical adenocarcinoma, adenosquamous carcinoma and combined adenocarcinoma-squamous carcinoma: appraisal of diagnostic criteria for in situ versus invasive lesions. *Cytopathology*. 1997;8(6):397-408.
- (131). Low SE, Nicol A. Ciliated cell variant of endometrioid adenocarcinoma: a rare tumour. *J Clin Pathol*. 2004;57(12):1341-2.
- (132). Motoyama T, Ajioka Y, Ohta T, Watanabe H. Ciliated carcinoma of the endometrium associated with mucinous and neuroendocrine differentiation: a case report with immunohistochemical and ultrastructural study. *Pathol Int*. 1994;44(6):480-5.
- (133). Jalloul RJ, Elshaikh MA, Ali-Fehmi R, Haley MM, Yoon J, Mahan M, et al. Mucinous adenocarcinoma of the endometrium: case series and review of the literature. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22(5):812-8.

- (134). Shiozawa T, Konishi I. Pathology of endometrial carcinoma. *Nihon Rinsho*. 2004;62 Suppl 10:273-8.
- (135). Mount SL. Mucinous metaplasias of the endometrium: biologically meaningful subsets for the practicing surgical pathologist. *Adv Anat Pathol*. 2000;7(4):197-200.
- (136). Deligdisch L. Hormonal pathology of the endometrium. *Mod Pathol*. 2000;13(3):285-94.
- (137). Bartosch C, Manuel Lopes J, Oliva E. Endometrial carcinomas: a review emphasizing overlapping and distinctive morphological and immunohistochemical features. *Adv Anat Pathol*. 2011;18(6):415-37.
- (138). Mendivil A, Schuler KM, Gehrig PA. Non-endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus: a review of selected histological subtypes. *Cancer Control*. 2009;16(1):46-52.
- (139). Lavie O, Beller U, Neuman M, Rosemann E, Diamant Y. Serous papillary adenocarcinoma of the endometrium. A unique entity with a grave prognosis. Case report and review of the literature. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1993;14(1):46-50.
- (140). Kounelis S, Kapranos N, Kouri E, Coppola D, Papadaki H, Jones MW. Immunohistochemical profile of endometrial adenocarcinoma: a study of 61 cases and review of the literature. *Mod Pathol*. 2000;13(4):379-88.
- (141). Rawish KR, Desouki MM, Crispens MA, Fadare O. Conventional endometrioid adenocarcinomas of the endometrium recurring as clear cell tumors: comparative immunohistochemical analyses. *Ann Diagn Pathol*. 2013;17(3):270-5.

- (142). Goto T, Takano M, Aoyama T, Miyamoto M, Watanabe A, Kato M, et al. Prognosis of high-grade endometrial cancer: a comparison of serous-type and clear cell type to grade 3 endometrioid-type. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2012;33(6):579-83.
- (143). Park ST, Song MJ, Lee CW, Lee AW, Hur SY, Park JS. Synchronous clear cell adenocarcinoma of the cervix and endometrioid carcinoma of the endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2011;32(5):573-5.
- (144). Tropé C, Kristensen GB, Abeler VM. Clear-cell and papillary serous cancer: treatment options. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2001;15(3):433-46.
- (145). Al-Loh S, Al-Hussaini M. Undifferentiated endometrial carcinoma: a diagnosis frequently overlooked. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(3):438-42.
- (146). Altrabulsi B, Malpica A, Deavers MT, Bodurka DC, Broaddus R, Silva EG. Undifferentiated carcinoma of the endometrium. *Am J Surg Pathol.* 2005;29(10):1316-21.
- (147). Silva EG, Deavers MT, Malpica A. Undifferentiated carcinoma of the endometrium: a review. *Pathology.* 2007;39(1):134-8.
- (148). Bige O, Saatli B, Secil M, Koyuncuoglu M, Saygili U. Small cell neuroendocrine carcinoma of the endometrium and laparoscopic staging: a clinicopathologic study of a case and a brief review of the literature. *Int J Gynecol Cancer.* 2008;18(4):838-43.
- (149). van Hoesen KH, Hudock JA, Woodruff JM, Suhrland MJ. Small cell neuroendocrine carcinoma of the endometrium. *Int J Gynecol Pathol.* 1995;14(1):21-9.

- (150). Huntsman DG, Clement PB, Gilks CB, Scully RE. Small-cell carcinoma of the endometrium. A clinicopathological study of sixteen cases. *Am J Surg Pathol.* 1994;18(4):364-75.
- (151). Mulligan AM, Plotkin A, Rouzbahman M, Soslow RA, Gilks CB, Clarke BA. Endometrial giant cell carcinoma: a case series and review of the spectrum of endometrial neoplasms containing giant cells. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(8):1132-8.
- (152). Jones MA, Young RH, Scully RE. Endometrial adenocarcinoma with a component of giant cell carcinoma. *Int J Gynecol Pathol.* 1991;10(3):260-70.
- (153). Bradley CS, Benjamin I, Wheeler JE, Rubin SC. Endometrial adenocarcinoma with trophoblastic differentiation. *Gynecol Oncol.* 1998;69(1):74-7.
- (154). Pesce C, Merino MJ, Chambers JT, Nogales F. Endometrial carcinoma with trophoblastic differentiation. An aggressive form of uterine cancer. *Cancer.* 1991;68(8):1799-802.
- (155). Fukuoka K, Hirokawa M, Shimizu M, Fujiwara K, Kohno I, Shintaku M, et al. Oxyphilic cell variant of endometrioid adenocarcinoma. *Pathol Int.* 1998;48(9):754-6.
- (156). Pitman MB, Young RH, Clement PB, Dickersin GR, Scully RE. Endometrioid carcinoma of the ovary and endometrium, oxyphilic cell type: a report of nine cases. *Int J Gynecol Pathol.* 1994;13(4):290-301.
- (157). Liang SX, Patel K, Pearl M, Liu J, Zheng W, Tornos C. Sertoliform endometrioid carcinoma of the endometrium with dual immunophenotypes

- for epithelial membrane antigen and inhibin alpha: case report and literature review. *Int J Gynecol Pathol*. 2007;26(3):291-7.
- (158). Eichhorn JH, Young RH, Clement PB. Sertoliform endometrial adenocarcinoma: a study of four cases. *Int J Gynecol Pathol*. 1996;15(2):119-26.
- (159). Mariño-Enríquez A, González-Rocha T, Burgos E, Stolnicu S, Mendiola M, Nogales FF, et al. Transitional cell carcinoma of the endometrium and endometrial carcinoma with transitional cell differentiation: a clinicopathologic study of 5 cases and review of the literature. *Hum Pathol*. 2008;39(11):1606-13.
- (160). Lininger RA, Ashfaq R, Albores-Saavedra J, Tavassoli FA. Transitional cell carcinoma of the endometrium and endometrial carcinoma with transitional cell differentiation. *Cancer*. 1997;79(10):1933-43.
- (161). Ahluwalia M, Light AM, Surampudi K, Finn CB. Transitional cell carcinoma of the endometrium: a case report and review of the literature. *Int J Gynecol Pathol*. 2006;25(4):378-82.
- (162). Hwang JH, Song SH, Kim YH, Shin BK, Lee JK, Lee NW, et al. Primary hepatoid adenocarcinoma of the endometrium with a high alphafetoprotein level. *Scott Med J*. 2011;56(2):120.
- (163). Kodama J, Seki N, Yanai H, Kusumoto T, Nakamura K, Hongo A, et al. α -fetoprotein-producing endometrial adenocarcinoma without an obvious hepatoid component. *Oncol Lett*. 2010 Mar;1(2):243-5.

- (164). Boyd C, Cameron I, McCluggage WG. Endometrial adenocarcinoma with signet ring cells: report of two cases of an extremely rare phenomenon. *Int J Gynecol Pathol*. 2010;29(6):579-82.
- (165). Chebib I, Chu P, Duggan MA, DiFrancesco LM. Primary signet-ring cell adenocarcinoma of the endometrium: case report and review of the literature. *Int J Gynecol Pathol*. 2010;29(3):269-72.
- (166). Gaertner EM, Farley JH, Taylor RR, Silver SA. Collision of uterine rhabdoid tumor and endometrioid adenocarcinoma: a case report and review of the literature. *Int J Gynecol Pathol*. 1999;18(4):396-401.
- (167). Bagué S, Rodríguez IM, Prat J. Malignant mesonephric tumors of the female genital tract: a clinicopathologic study of 9 cases. *Am J Surg Pathol*. 2004;28(5):601-7.
- (168). Merritt MA, Cramer DW. Molecular pathogenesis of endometrial and ovarian cancer. *Cancer Biomark*. 2010;9(1-6):287-305.
- (169). Sherman ME. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. *Mod Pathol*. 2000;13(3):295-308.
- (170). Lax SF, Kurman RJ. A dualistic model for endometrial carcinogenesis based on immunohistochemical and molecular genetic analyses. *Verh Dtsch Ges Pathol*. 1997;81:228-32.
- (171). Sherman ME, Sturgeon S, Brinton L, Kurman RJ. Endometrial cancer chemoprevention: implications of diverse pathways of carcinogenesis. *J Cell Biochem Suppl*. 1995;23:160-4.
- (172). Hamilton CA, Cheung MK, Osann K, Chen L, Teng NN, Longacre TA, et al. Uterine papillary serous and clear cell carcinomas predict for poorer survival

- compared to grade 3 endometrioid corpus cancers. *Br J Cancer*. 2006;94(5):642-6.
- (173). Basil JB, Goodfellow PJ, Rader JS, Mutch DG, Herzog TJ. Clinical significance of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer*. 2000;89(8):1758-64.
- (174). Solima E, Brusati V, Ditto A, Kusamura S, Martinelli F, Hanozet F, et al. Hysteroscopy in endometrial cancer: new methods to evaluate transtubal leakage of saline distension medium. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(2):214.e1-4.
- (175). Münstedt K, Grant P, Woenckhaus J, Roth G, Tinneberg HR. Cancer of the endometrium: current aspects of diagnostics and treatment. *World J Surg Oncol*. 2004;2:24.
- (176). Zuber TJ. Endometrial biopsy. *Am Fam Physician*. 2001;63(6):1131-5, 1137-41.
- (177). Espindola D, Kennedy KA, Fischer EG. Management of abnormal uterine bleeding and the pathology of endometrial hyperplasia. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2007;34(4):717-37.
- (178). Kondo E, Tabata T, Koduka Y, Nishiura K, Tanida K, Okugawa T, et al. What is the best method of detecting endometrial cancer in outpatients?-endometrial sampling, suction curettage, endometrial cytology. *Cytopathology*. 2008;19(1):28-33.
- (179). Fakhar S, Saeed G, Khan AH, Alam AY. Validity of pipelle endometrial sampling in patients with abnormal uterine bleeding. *Ann Saudi Med*. 2008;28(3):188-91.

- (180). Tanriverdi HA, Barut A, Gün BD, Kaya E. Is pipelle biopsy really adequate for diagnosing endometrial disease? *Med Sci Monit.* 2004;10(6):CR271-4.
- (181). Norimatsu Y, Yanoh K, Kobayashi TK. The role of liquid-based preparation in the evaluation of endometrial cytology. *Acta Cytol.* 2013;57(5):423-35.
- (182). Weintraub J, Morabia A. Efficacy of a liquid-based thin layer method for cervical cancer screening in a population with a low incidence of cervical cancer. *Diagn Cytopathol.* 2000;22(1):52-9.
- (183). Guo M, Hu L, Martin L, Liu S, Baliga M, Hughson MD. Accuracy of liquid-based Pap tests: comparison of concurrent liquid-based tests and cervical biopsies on 782 women with previously abnormal Pap smears. *Acta Cytol.* 2005;49(2):132-8.
- (184). Fremont-Smith M, Marino J, Griffin B, Spencer L, Bolick D. Comparison of the SurePath liquid-based Papanicolaou smear with the conventional Papanicolaou smear in a multisite direct-to-vial study. *Cancer.* 2004;102(5):269-79.
- (185). Beerman H, van Dorst EB, Kuenen-Boumeester V, Hogendoorn PC. Superior performance of liquid-based versus conventional cytology in a population-based cervical cancer screening program. *Gynecol Oncol.* 2009;112(3):572-6.
- (186). Garcia F, Barker B, Davis J, Shelton T, Harrigill K, Schalk N, et al. Thin-layer cytology and histopathology in the evaluation of abnormal uterine bleeding. *J Reprod Med.* 2003;48(11):882-8.
- (187). Byrne AJ. Endocyte endometrial smears in the cytodiagnosis of endometrial carcinoma. *Acta Cytol.* 1990;34(3):373-81.

- (188). Buckley CH, Fox H. Biopsy Pathology of the Endometrium. 2^a ed. Nueva York: Arnold; 2002.
- (189). Skaarland E. New concept in diagnostic endometrial cytology: diagnostic criteria based on composition and architecture of large tissue fragments in smears. J Clin Pathol. 1986;39(1):36-43.
- (190). Norimatsu Y, Shimizu K, Kobayashi TK, Moriya T, Tsukayama C, Miyake Y, et al. Cellular features of endometrial hyperplasia and well differentiated adenocarcinoma using the Endocyte sampler: Diagnostic criteria based on the cytoarchitecture of tissue fragments. Cancer. 2006;108(2):77-85.
- (191). Mittal K, Soslow R, McCluggage WG. Application of immunohistochemistry to gynecologic pathology. Arch Pathol Lab Med. 2008;132(3):402-23.
- (192). McCluggage WG. A critical appraisal of the value of immunohistochemistry in diagnosis of uterine neoplasms. Adv Anat Pathol. 2004;11(3):162-71.
- (193). Deavers MT, Malpica A, Silva EG. Immunohistochemistry in gynecological pathology. Int J Gynecol Cancer. 2003;13(5):567-79.
- (194). Zárate Osorno A. Inmunohistoquímica de tumores ginecológicos. México, D.F.: Hospital Español de México; 1998.
- (195). Mackay HJ, Gallinger S, Tsao MS, McLachlin CM, Tu D, Keiser K, et al. Prognostic value of microsatellite instability (IMS) and PTEN expression in women with endometrial cancer: results from studies of the NCIC Clinical Trials Group (NCIC CTG). Eur J Cancer. 2010;46(8):1365-73.
- (196). Peiró G, Diebold J, Lohse P, Ruebsamen H, Lohse P, Baretton GB, et al. Microsatellite instability, loss of heterozygosity, and loss of hMLH1 and

- hMSH2 protein expression in endometrial carcinoma. *Hum Pathol.* 2002;33(3):347-54.
- (197). Walsh MD, Cummings MC, Buchanan DD, Dambacher WM, Arnold S, McKeone D, et al. Molecular, pathologic, and clinical features of early-onset endometrial cancer: identifying presumptive Lynch syndrome patients. *Clin Cancer Res.* 2008;14(6):1692-700.
- (198). Meyer LA, Broaddus RR, Lu KH. Endometrial cancer and Lynch syndrome: clinical and pathologic considerations. *Cancer Control.* 2009;16(1):14-22.
- (199). Goodfellow PJ, Buttin BM, Herzog TJ, Rader JS, Gibb RK, Swisher E, et al. Prevalence of defective DNA mismatch repair and MSH6 mutation in an unselected series of endometrial cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(10):5908-13.
- (200). Gayther SA, Pharoah PD. The inherited genetics of ovarian and endometrial cancer. *Curr Opin Genet Dev.* 2010;20(3):231-8.
- (201). Huang H, Lin M, Tseng L, Chiang Y, Lin L, Lin Y, et al. Ovarian and endometrial endometrioid adenocarcinomas have distinct profiles of microsatellite instability, PTEN expression, and ARID1A expression. *Histopathology.* 2014; En prensa.
- (202). Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013;497(7447):67-73.
- (203). Matias-Guiu X, Prat J. Molecular pathology of endometrial carcinoma. *Histopathology.* 2013;62(1):111-23.

- (204). O'Hara AJ, Bell DW. The genomics and genetics of endometrial cancer. *Adv Genomics Genet.* 2012;2012(2):33-47.
- (205). Prat J, Gallardo A, Cuatrecasas M, Catasús L. Endometrial carcinoma: pathology and genetics. *Pathology.* 2007;39(1):72-87.
- (206). Mitselou A, Ioachim E, Zagorianakou N, Kitsiou E, Vougiouklakis T, Agnantis NJ. Expression of the cell-cycle regulatory proteins (cyclins D1 and E) in endometrial carcinomas: correlations with hormone receptor status, proliferating indices, tumor suppressor gene products (p53, pRb), and clinicopathological parameters. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2004;25(6):719-24.
- (207). Yamauchi N, Sakamoto A, Uozaki H, Iihara K, Machinami R. Immunohistochemical analysis of endometrial adenocarcinoma for bcl-2 and p53 in relation to expression of sex steroid receptor and proliferative activity. *Int J Gynecol Pathol.* 1996;15(3):202-8.
- (208). Zhang L, Wan Y, Jiang Y, Ma J, Liu J, Tang W, et al. Upregulation HOXA10 homeobox gene in endometrial cancer: role in cell cycle regulation. *Med Oncol.* 2014;31(7):52.
- (209). Moro L, Greco M, Maiorano E, Selvaggi L, Marra E, Perlino E. Transcriptional regulation of beta1 integrin expression in the physio/pathological states of human endometrial tissues. *Int J Oncol.* 2005;26(2):457-65.
- (210). Jongen VH, Briët JM, de Jong RA, Joppe E, ten Hoor KA, Boezen HM, et al. Aromatase, cyclooxygenase 2, HER-2/neu, and p53 as prognostic factors in endometrioid endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2009;19(4):670-6.

- (211). Karahan N, Güney M, Baspinar S, Oral B, Kapucuoglu N, Mungan T. Expression of gelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2007;28(3):184-8.
- (212). Saegusa M, Hashimura M, Hara A, Okayasu I. Loss of expression of the gene deleted in colon carcinoma (DCC) is closely related to histologic differentiation and lymph node metastasis in endometrial carcinoma. *Cancer.* 1999;85(2):453-64.
- (213). Susini T, Massi D, Paglierani M, Masciullo V, Scambia G, Giordano A, et al. Expression of the retinoblastoma-related gene Rb2/p130 is downregulated in atypical endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2001;32(4):360-7.
- (214). Milde-Langosch K, Goemann C, Methner C, Rieck G, Bamberger AM, Löning T. Expression of Rb2/p130 in breast and endometrial cancer: correlations with hormone receptor status. *Br J Cancer.* 2001;85(4):546-51.
- (215). Bonatz G, Frahm SO, Klapper W, Helfenstein A, Heidorn K, Jonat W, et al. High telomerase activity is associated with cell cycle deregulation and rapid progression in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Hum Pathol.* 2001;32(6):605-14.
- (216). Kudela M, Pilka R, Lubusky M, Hejtmanek P, Dzubak P, Brychtova S. Prognostic importance of selected molecular immunohistochemical markers and DNA ploidy in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2012;33(2):159-63.
- (217). Pradhan M, Abeler VM, Danielsen HE, Sandstad B, Tropé CG, Kristensen GB, et al. Prognostic importance of DNA ploidy and DNA index in stage I

- and II endometrioid adenocarcinoma of the endometrium. *Ann Oncol.* 2012;23(5):1178-84.
- (218). Suehiro Y, Okada T, Okada T, Anno K, Okayama N, Ueno K, et al. Aneuploidy predicts outcome in patients with endometrial carcinoma and is related to lack of CDH13 hypermethylation. *Clin Cancer Res.* 2008;14(11):3354-61.
- (219). Susini T, Amunni G, Molino C, Carriero C, Rapi S, Branconi F, et al. Ten-year results of a prospective study on the prognostic role of ploidy in endometrial carcinoma: dNA aneuploidy identifies high-risk cases among the so-called 'low-risk' patients with well and moderately differentiated tumors. *Cancer.* 2007;109(5):882-90.
- (220). Gemoll T, Habermann JK, Lahmann J, Szymczak S, Lundgren C, Bündgen NK, et al. Protein profiling of genomic instability in endometrial cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69(2):325-33.
- (221). AlHilli MM, Podratz KC, Dowdy SC, Bakkum-Gamez JN, Weaver AL, McGree ME, et al. Risk-scoring system for the individualized prediction of lymphatic dissemination in patients with endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2013;131(1):103-8.
- (222). Geels YP, Pijnenborg JM, van den Berg-van Erp SH, Snijders MP, Bulten J, Massuger LF. Absolute depth of myometrial invasion in endometrial cancer is superior to the currently used cut-off value of 50%. *Gynecol Oncol.* 2013;129(2):285-91.

- (223). Cole AJ, Quick CM. Patterns of myoinvasion in endometrial adenocarcinoma: recognition and implications. *Adv Anat Pathol*. 2013;20(3):141-7.
- (224). Hanley KZ, Dustin SM, Stoler MH, Atkins KA. The significance of tumor involved adenomyosis in otherwise low-stage endometrioid adenocarcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2010;29(5):445-51.
- (225). Ali A, Black D, Soslow RA. Difficulties in assessing the depth of myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2007;26(2):115-23.
- (226). Haldorsen IS, Berg A, Werner HM, Magnussen IJ, Helland H, Salvesen OO, et al. Magnetic resonance imaging performs better than endocervical curettage for preoperative prediction of cervical stromal invasion in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol*. 2012;126(3):413-8.
- (227). Leminen A, Forss M, Lehtovirta P. Endometrial adenocarcinoma with clinical evidence of cervical involvement: accuracy of diagnostic procedures, clinical course, and prognostic factors. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1995;74(1):61-6.
- (228). Kitahara S, Walsh C, Frumovitz M, Malpica A, Silva EG. Vascular pseudoinvasion in laparoscopic hysterectomy specimens for endometrial carcinoma: a grossing artifact? *Am J Surg Pathol*. 2009;33(2):298-303.
- (229). Folkins AK, Nevadunsky NS, Saleemuddin A, Jarboe EA, Muto MG, Feltmate CM, et al. Evaluation of vascular space involvement in endometrial adenocarcinomas: laparoscopic vs abdominal hysterectomies. *Mod Pathol*. 2010;23(8):1073-9.

- (230). Kumar S, Mariani A, Bakkum-Gamez JN, Weaver AL, McGree ME, Keeney GL, et al. Risk factors that mitigate the role of paraaortic lymphadenectomy in uterine endometrioid cancer. *Gynecol Oncol.* 2013;130(3):441-5.
- (231). Kumar S, Podratz KC, Bakkum-Gamez JN, Dowdy SC, Weaver AL, McGree ME, et al. Prospective assessment of the prevalence of pelvic, paraaortic and high paraaortic lymph node metastasis in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2014;132(1):38-43.
- (232). Brown AP, Gaffney DK, Dodson MK, Soisson AP, Belnap TW, Alleman K, et al. Survival analysis of endometrial cancer patients with positive lymph nodes. *Int J Gynecol Cancer.* 2013;23(5):861-8.
- (233). Terada KY, Black M, Terada LH, Davis J, Shimizu DM. Survival of endometrial cancer patients with lymphatic invasion and deficient mismatch repair expression. *Gynecol Oncol.* 2013;129(1):188-92.
- (234). Matsuo K, Sheridan TB, Yoshino K, Miyake T, Hew KE, Im DD, et al. Significance of lymphovascular space invasion in epithelial ovarian cancer. *Cancer Med.* 2012;1(2):156-64.
- (235). Dehari R, Kurman RJ, Logani S, Shih IeM. The development of high-grade serous carcinoma from atypical proliferative (borderline) serous tumors and low-grade micropapillary serous carcinoma: a morphologic and molecular genetic analysis. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(7):1007-12.
- (236). Bese T, Demirkiran F, Guralp O, Sanioglu C, Arvas M. Transtubal transport of carcinoma cells into the peritoneal cavity after saline infusion via transcervical route in patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer.* 2009;19(4):682-5.

- (237). Wu TI, Chang TC, Hsueh S, Lai CH. Ovarian endometrioid carcinoma with diffuse pigmented peritoneal keratin granulomas: a case report and review of the literature. *Int J Gynecol Cancer*. 2006;16(1):426-9.
- (238). Blecharz P, Brandys P, Urbański K, Reinfuss M, Patla A. Vaginal and pelvic recurrences in stage I and II endometrial carcinoma—survival and prognostic factors. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2011;32(4):403-7.
- (239). Gilani S, Tashjian R, Fathallah L. High-grade primary peritoneal serous papillary carcinoma with a wide differential diagnosis: a diagnostic challenge. *Pathologica*. 2012;104(6):442-5.
- (240). Hinshaw HD, Smith A, Rungruang B, Kelley JL Jr, Beriwal S, Krivak TC, et al. The risk of subsequent malignancies in women with uterine papillary serous or clear cell endometrial cancers. *Int J Gynecol Cancer*. 2013;23(6):1044-9.
- (241). Farooq MU, Chang HT. Intracranial and scalp metastasis of endometrial carcinoma. *Med Sci Monit*. 2008;14(9):CS87-8.
- (242). Sohaib SA, Houghton SL, Meroni R, Rockall AG, Blake P, Reznick RH. Recurrent endometrial cancer: patterns of recurrent disease and assessment of prognosis. *Clin Radiol*. 2007;62(1):28-34.
- (243). Berretta R, Patrelli TS, Faioli R, Mautone D, Gizzo S, Mezzogiorno A, et al. Dedifferentiated endometrial cancer: an atypical case diagnosed from cerebellar and adrenal metastasis: case presentation and review of literature. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6(8):1652-7.
- (244). Binesh F, Zahir ST, Akhavan A, Bovanlu TR. Endometrial stromal sarcoma of the uterus presenting as pulmonary metastasis. *BMJ Case Rep*. 2013;2013.

- (245). Kurra V, Krajewski KM, Jagannathan J, Giardino A, Berlin S, Ramaiya N. Typical and atypical metastatic sites of recurrent endometrial carcinoma. *Cancer Imaging*. 2013;13:113-22.
- (246). Lim MC, Chun KC, Shin SJ, Lee IH, Lim KT, Cho CH, et al. Clinical presentation of endometrioid epithelial ovarian cancer with concurrent endometriosis: a multicenter retrospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;19(2):398-404.
- (247). Qiu L, Wang S, Lang JH, Shen K, Huang HF, Pan LY, et al. The occurrence of endometriosis with ovarian carcinomas is not purely coincidental. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;170(1):225-8.
- (248). Grun B, Benjamin E, Sinclair J, Timms JF, Jacobs IJ, Gayther SA, et al. Three-dimensional in vitro cell biology models of ovarian and endometrial cancer. *Cell Prolif*. 2009;42(2):219-28.
- (249). Zorn KK, Bonome T, Gangi L, Chandramouli GV, Awtrey CS, Gardner GJ, et al. Gene expression profiles of serous, endometrioid, and clear cell subtypes of ovarian and endometrial cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11(18):6422-30.
- (250). Kurman RJ, Shih IeM. Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications. *Int J Gynecol Pathol*. 2008;27(2):151-60.
- (251). Lee ES, Leong AS, Kim IS, Kim YS, Lee JH, Cho HY. Glomeruloid peritoneal implants in ovarian serous borderline tumours—distinction between invasive and non-invasive implants and pathogenesis. *Histopathology*. 2009;55(5):505-13.

- (252). Matias-Guiu X, Davidson B. Prognostic biomarkers in endometrial and ovarian carcinoma. *Virchows Arch.* 2014;464(3):315-31.
- (253). Caduff RF, Svoboda-Neumann SM, Johnston CM, Bartos RE, Frank TS. Molecular analysis in endometrial cancer. *Verh Dtsch Ges Pathol.* 1997;81:219-27.
- (254). Culton LK, Deavers MT, Silva EG, Liu J, Malpica A. Endometrioid carcinoma simultaneously involving the uterus and the fallopian tube: a clinicopathologic study of 13 cases. *Am J Surg Pathol.* 2006;30(7):844-9.
- (255). Federação Brasileira das Associações de Ginecologia; Obstetrícia e Sociedade Brasileira de Cancerologia. Endometrial carcinoma: treatment. *Rev Assoc Med Bras.* 2012;58(3):281-6.
- (256). Sonoda Y. Surgical treatment for apparent early stage endometrial cancer. *Obstet Gynecol Sci.* 2014;57(1):1-10.
- (257). Sorosky JI. Endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2012;120(2 Pt 1):383-97.
- (258). Arora V, Quinn MA. Endometrial cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012;26(3):311-24.
- (259). AlHilli MM, Mariani A. The role of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer. *Int J Clin Oncol.* 2013;18(2):193-9.
- (260). Zerbe MJ, Bristow R, Grumbine FC, Montz FJ. Inability of preoperative computed tomography scans to accurately predict the extent of myometrial invasion and extracorporeal spread in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2000;78(1):67-70.

- (261). Barwijuk A, Jankowska S. Is laparoscopic or abdominal hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy more efficient in operative treatment of endometrial cancer? *J Obstet Gynaecol.* 2005;25(7):703-5.
- (262). Kao MS. Management of recurrent endometrial carcinoma. *Chang Gung Med J.* 2004;27(9):639-45.
- (263). Moxley KM, McMeekin DS. Endometrial carcinoma: a review of chemotherapy, drug resistance, and the search for new agents. *Oncologist.* 2010;15(10):1026-33.
- (264). Santin AD, Bellone S, O'Brien TJ, Pecorelli S, Cannon MJ, Roman JJ. Current treatment options for endometrial cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2004;4(4):679-89.
- (265). Santacana M1, Yeramian A, Velasco A, Bergada L, Gatus S, García V, et al. Immunohistochemical features of post-radiation vaginal recurrences of endometrioid carcinomas of the endometrium: role for proteins involved in resistance to apoptosis and hypoxia. *Histopathology.* 2012;60(3):460-71.
- (266). Asbury RF, Brunetto VL, Lee RB, Reid G, Rocereto TF; Gynecologic Oncology Group. Goserelin acetate as treatment for recurrent endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Am J Clin Oncol.* 2002;25(6):557-60.
- (267). Stoian SC, Simionescu C, Mărgăritescu C, Stepan A, Nurciu M. Endometrial carcinomas: correlation between ER, PR, Ki67 status and histopathological prognostic parameters. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(2):631-6.
- (268). Gunderson CC, Dutta S, Fader AN, Maniar KP, Nasseri-Nik N, Bristow RE, et al. Pathologic features associated with resolution of complex atypical

- hyperplasia and grade 1 endometrial adenocarcinoma after progestin therapy. *Gynecol Oncol.* 2014;132(1):33-7.
- (269). Mentrikoski MJ, Shah AA, Hanley KZ, Atkins KA. Assessing endometrial hyperplasia and carcinoma treated with progestin therapy. *Am J Clin Pathol.* 2012;138(4):524-34.
- (270). Park H, Seok JM, Yoon BS, Seong SJ, Kim JY, Shim JY, et al. Effectiveness of high-dose progestin and long-term outcomes in young women with early-stage, well-differentiated endometrioid adenocarcinoma of uterine endometrium. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(2):473-8.
- (271). Wheeler DT, Bristow RE, Kurman RJ. Histologic alterations in endometrial hyperplasia and well-differentiated carcinoma treated with progestins. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(7):988-98.
- (272). Kuscu E1, Oktem M, Haberal A, Erkanli S, Bilezikci B, Demirhan B. Management of advanced-stage primary carcinoma of the fallopian tube: case report and literature review. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2003;24(6):557-60.
- (273). Growdon WB1, Rauh-Hain JJ, Cordon A, Garrett L, Schorge JO, Goodman A, et al. Prognostic determinants in patients with stage I uterine papillary serous carcinoma: a 15-year multi-institutional review. *Int J Gynecol Cancer.* 2012;22(3):417-24.
- (274). Gizzo S, Fabris A, Litta P, Saccardi C. Estimated intermediate risk endometrial cancer: debate and new perspectives on therapy individualization and prognosis establishment starting from a peculiar case. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(5):2664-9.

- (275). Williams JW, Hirschowitz L. Assessment of uterine wall thickness and position of the vascular plexus in the deep myometrium: implications for the measurement of depth of myometrial invasion of endometrial carcinomas. *Int J Gynecol Pathol*. 2006;25(1):59-64.
- (276). Stachs A, Makovitzky J, Briese V. Small cell carcinoma of the endometrium: light microscopic and immunohistochemical study of a case. *Anticancer Res*. 2005;25(3A):1823-5.
- (277). Piestrzeniewicz-Ulanska D, Brys M, Semczuk A, Rechberger T, Jakowicki JA, Krajewska WM. TGF-beta signaling is disrupted in endometrioid-type endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol*. 2004;95(1):173-80.
- (278). Scurry J, Craighead P, Duggan M. Histologic study of patterns of cervical involvement in FIGO stage II endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2000;10(6):497-502.
- (279). Amant F, Floquet A, Friedlander M, Kristensen G, Mahner S, Nam EJ, et al. Gynecologic Cancer InterGroup (GCIG) consensus review for endometrial stromal sarcoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2014;24(9 Suppl 3):S67-72.
- (280). Kawamura L1, Carvalho FM, Alves BG, Bacchi CE, Goes JC, Calil MA, et al. Association between intratumoral lymphatic microvessel density (LMVD) and clinicopathologic features in endometrial cancer: a retrospective cohort study. *World J Surg Oncol*. 2010;8:89.
- (281). Horn LC, Schierle K, Schmidt D, Ulrich U, Liebmann A, Wittekind C. Current TNM/FIGO classification for cervical and endometrial cancer as well as malignant mixed müllerian tumors. Facts and background. *Pathologe*. 2011;32(3):239-43.

- (282). Peungjesada S, Bhosale PR, Balachandran A, Iyer RB. Magnetic resonance imaging of endometrial carcinoma. *J Comput Assist Tomogr.* 2009;33(4):601-8.
- (283). Markova I, Duskova M, Lubusky M, Kudela M, Zapletalová J, Procházka M, et al. Selected immunohistochemical prognostic factors in endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2010;20(4):576-82.
- (284). Sivridis E, Giatromanolaki A. Prognostic aspects on endometrial hyperplasia and neoplasia. *Virchows Arch.* 2001;439(2):118-26.
- (285). Maghraby HK, Elsarha AI, Saad RS. Peritumoral lymphatic vessel density as a prognostic parameter in endometrial carcinoma: an immunohistochemical study. *Indian J Pathol Microbiol.* 2010;53(3):465-9.
- (286). Mannelqvist M, Stefansson I, Salvesen HB, Akslen LA. Importance of tumour cell invasion in blood and lymphatic vasculature among patients with endometrial carcinoma. *Histopathology.* 2009;54(2):174-83.
- (287). Kuroki J, Hasegawa K, Kato R, Mizukawa J, Nishio E, Nishizawa H, et al. Relationship between the classification of vascular invasion severity and the prognosis of uterine endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2003;13(1):47-52.
- (288). Dewdney SB, Jiao Z, Roma AA, Gao F, Rimel BJ, Thaker PH, et al. The prognostic significance of lymphovascular space invasion in laparoscopic versus abdominal hysterectomy for endometrioid endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2014;35(1):7-10.
- (289). Uharcek P. Prognostic factors in endometrial carcinoma. *J Obstet Gynaecol Res.* 2008;34(5):776-83.

- (290). Gehrig PA, Van Le L, Olatidoye B, Geradts J. Estrogen receptor status, determined by immunohistochemistry, as a predictor of the recurrence of stage I endometrial carcinoma. *Cancer*. 1999;86(10):2083-9.
- (291). Urabe R, Hachisuga T, Kurita T, Kagami S, Kawagoe T, Matsuura Y, et al. Prognostic significance of overexpression of p53 in uterine endometrioid adenocarcinomas with an analysis of nuclear grade. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014;40(3):812-9.
- (292). Garg K, Leitao MM Jr, Wynveen CA, Sica GL, Shia J, Shi W, et al. p53 overexpression in morphologically ambiguous endometrial carcinomas correlates with adverse clinical outcomes. *Mod Pathol*. 2010;23(1):80-92.
- (293). Kalogiannidis I, Bobos M, Papanikolaou A, Makedos A, Amplianitis I, Vergote I, et al. Immunohistochemical bcl-2 expression, p53 overexpression, PR and ER status in endometrial carcinoma and survival outcomes. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2008;29(1):19-25.
- (294). Togami S, Sasajima Y, Oi T, Ishikawa M, Onda T, Ikeda S, et al. Clinicopathological and prognostic impact of human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2) and hormone receptor expression in uterine papillary serous carcinoma. *Cancer Sci*. 2012;103(5):926-32.
- (295). Mano MS, Rosa DD, De Azambuja E, Ismael GF, Durbecq V. The 17q12-q21 amplicon: Her2 and topoisomerase-IIalpha and their importance to the biology of solid tumours. *Cancer Treat Rev*. 2007;33(1):64-77.
- (296). Androutsopoulos G, Adonakis G, Liava A, Ravazoula P, Decavalas G. Expression and potential role of ErbB receptors in type II endometrial cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;168(2):204-8.

- (297). Mori N, Kyo S, Nakamura M, Hashimoto M, Maida Y, Mizumoto Y, et al. Expression of HER-2 affects patient survival and paclitaxel sensitivity in endometrial cancer. *Br J Cancer*. 2010;103(6):889-98.
- (298). Pradhan M, Davidson B, Abeler VM, Danielsen HE, Tropé CG, Kristensen GB, et al. DNA ploidy may be a prognostic marker in stage I and II serous adenocarcinoma of the endometrium. *Virchows Arch*. 2012;461(3):291-8.
- (299). Wik E, Trovik J, Iversen OE, Engelsen IB, Stefansson IM, Vestrheim LC, et al. Deoxyribonucleic acid ploidy in endometrial carcinoma: a reproducible and valid prognostic marker in a routine diagnostic setting. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;201(6):603.e1-7.
- (300). Chew I, Oliva E. Endometrial stromal sarcomas: a review of potential prognostic factors. *Adv Anat Pathol*. 2010;17(2):113-21.
- (301). Mauland KK, Wik E, Salvesen HB. Clinical value of DNA content assessment in endometrial cancer. *Cytometry B Clin Cytom*. 2014;86(3):154-63.
- (302). Feng W, Malpica A, Skaland I, Gudlaugsson E, Robboy SJ, Dalen I, et al. Can proliferation biomarkers reliably predict recurrence in World Health Organization 2003 defined endometrial stromal sarcoma, low grade? *PLoS One*. 2013;8(10):e75899.
- (303). Fadare O, Yi X, Liang SX, Ma Y, Zheng W. Variations of mitotic index in normal and dysplastic squamous epithelium of the uterine cervix as a function of endometrial maturation. *Mod Pathol*. 2007;20(9):1000-8.

- (304). Tanaka N, Ogi K, Odajima T, Dehari H, Yamada S, Sonoda T, et al. pRb2/p130 protein expression is correlated with clinicopathologic findings in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer*. 2001;92(8):2117-25.
- (305). Merritt WM, Kamat AA, Hwang JY, Bottsford-Miller J, Lu C, Lin YG, et al. Clinical and biological impact of EphA2 overexpression and angiogenesis in endometrial cancer. *Cancer Biol Ther*. 2010;10(12):1306-14.
- (306). Czekierdowski A, Czekierdowska S, Czuba B, Cnota W, Sadowski K, Kotarski J, et al. Microvessel density assessment in benign and malignant endometrial changes. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59 Suppl 4:45-51.
- (307). Ozalp S, Yalcin OT, Acikalin M, Tanir HM, Oner U, Akkoyunlu A. Microvessel density (MVD) as a prognosticator in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2003;24(3-4):305-8.
- (308). Sivridis E. Angiogenesis and endometrial cancer. *Anticancer Res*. 2001;21(6B):4383-8.
- (309). Coppola D, Fu L, Nicosia SV, Kounelis S, Jones M. Prognostic significance of p53, bcl-2, vimentin, and S100 protein-positive Langerhans cells in endometrial carcinoma. *Hum Pathol*. 1998;29(5):455-62.
- (310). Recalde Cañete A. Síndrome de Lynch. Prevalencia, características clínicas y tratamiento. *Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2007;5(2):32-7.
- (311). Frebourg T, Mauillon J, Thomas G, Olschwang S. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Definition, genetics, diagnosis, and medical surveillance. *Gastroenterol Clin Biol*. 2003;27(8-9):708-14.
- (312). Scott RJ, Lubinski J. Genetic epidemiology studies in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Methods Mol Biol*. 2009;472:89-102.

- (313). Berends MJ, Wu Y, Sijmons RH, Hofstra RM, van der Zee AG, Buys CH, et al. Clinical definition of hereditary non-polyposis colorectal cancer: a search for the impossible? *Scand J Gastroenterol Suppl.* 2001;(234):61-7.
- (314). Kerber RA, Neklason DW, Samowitz WS, Burt RW. Frequency of familial colon cancer and hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) in a large population database. *Fam Cancer.* 2005;4(3):239-44.
- (315). Gala M, Chung DC. Hereditary colon cancer syndromes. *Semin Oncol.* 2011;38(4):490-9.
- (316). Pavlovic-Calic N, Muminhodzic K, Zildzic M, Smajic M, Gegic A, Alibegovic E, et al. Genetics, clinical manifestations and management of PAF and HNPCC. *Med Arh.* 2007;61(4):256-9.
- (317). Soravia C, Bapat B, Cohen Z. Familial adenomatous polyposis (PAF) and hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC): a review of clinical, genetic and therapeutic aspects. *Schweiz Med Wochenschr.* 1997;127(16):682-90.
- (318). D'Emilia JC, Rodriguez-Bigas MA, Petrelli NJ. The clinical and genetic manifestations of hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma. *Am J Surg.* 1995;169(3):368-72.
- (319). Lynch HT, Grady W, Suriano G, Huntsman D. Gastric cancer: new genetic developments. *J Surg Oncol.* 2005;90(3):114-33.
- (320). Song YM, Zheng S. Analysis for phenotype of HNPCC in China. *World J Gastroenterol.* 2002;8(5):837-40.
- (321). Park YJ, Shin KH, Park JG. Risk of gastric cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer in Korea. *Clin Cancer Res.* 2000;6(8):2994-8.

- (322). Jones JS, Gu X, Lynch PM, Rodriguez-Bigas M, Amos CI, Frazier ML. ATM polymorphism and hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) age of onset (United States). *Cancer Causes Control*. 2005;16(6):749-53.
- (323). Choi YH, Briollais L, Green J, Parfrey P, Kopciuk K. Estimating successive cancer risks in Lynch Syndrome families using a progressive three-state model. *Stat Med*. 2014;33(4):618-38.
- (324). Kushnir VM, Nalbantoglu I, Watson R, Goodwin J, Safar E, Chokshi RV, et al. Advanced colorectal adenomas in patients under 45 years of age are mostly sporadic. *Dig Dis Sci*. 2014;59(11):2757-64.
- (325). Geary J, Sasieni P, Houlston R, Izatt L, Eeles R, Payne SJ, Fisher S, et al. Gene-related cancer spectrum in families with hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC). *Fam Cancer*. 2008;7(2):163-72.
- (326). Stigliano V, Assisi D, Cosimelli M, Palmirotta R, Giannarelli D, Mottotese M, et al. Survival of hereditary non-polyposis colorectal cancer patients compared with sporadic colorectal cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res*. 2008;27:39.
- (327). Lu KH, Daniels M. Endometrial and ovarian cancer in women with Lynch syndrome: update in screening and prevention. *Fam Cancer*. 2013;12(2):273-7.
- (328). Soliman PT, Broaddus RR, Schmeler KM, Daniels MS, Gonzalez D, Slomovitz BM, et al. Women with synchronous primary cancers of the endometrium and ovary: do they have Lynch syndrome? *J Clin Oncol*. 2005;23(36):9344-50.

- (329). Kohlmann W, Gruber SB. Lynch Syndrome. En: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, et al., editores. GeneReviews. University of Washington, Seattle: Seattle (WA); 2004. p. 1993-2014.
- (330). Schneider R, Schneider C, Kloor M, Fürst A, Möslin G. Lynch syndrome: clinical, pathological, and genetic insights. *Langenbecks Arch Surg.* 2012;397(4):513-25.
- (331). González-Aguilera JJ, Nejda N, Fernández FJ, Medina V, González-Hermoso F, Barrios Y, et al. Genetic alterations and IMS status in primary, synchronous, and metachronous tumors in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC). *Am J Clin Oncol.* 2003;26(4):386-91.
- (332). Hemminki K, Chen B. Familial risks for colorectal cancer show evidence on recessive inheritance. *Int J Cancer.* 2005;115(5):835-8.
- (333). Kwak EL, Chung DC. Hereditary colorectal cancer syndromes: an overview. *Clin Colorectal Cancer.* 2007;6(5):340-4.
- (334). Kupfer SS, McCaffrey S, Kim KE. Racial and gender disparities in hereditary colorectal cancer risk assessment: the role of family history. *J Cancer Educ.* 2006;21(1 Suppl):S32-6.
- (335). Oliveira Ferreira F, Napoli Ferreira CC, Rossi BM, Toshihiko Nakagawa W, Aguilar S Jr, Monteiro Santos EM, et al. Frequency of extra-colonic tumors in hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) and familial colorectal cancer (FCC) Brazilian families: An analysis by a Brazilian Hereditary Colorectal Cancer Institutional Registry. *Fam Cancer.* 2004;3(1):41-7.

- (336). Nemati A, Rahmatabadi ZK, Fatemi A, Emami MH. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer and familial colorectal cancer in Central part of Iran, Isfahan. *J Res Med Sci.* 2012;17(1):67-73.
- (337). Zhang YZ, Sheng JQ, Li SR, Wu ZT. Hereditary predisposition of colorectal cancer and prevalence of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in general population of colorectal cancer patients in China. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2005;85(42):2995-3000.
- (338). Hartman DJ, Brand RE, Hu H, Bahary N, Dudley B, Chiosea SI, et al. Lynch syndrome-associated colorectal carcinoma: frequent involvement of the left colon and rectum and late-onset presentation supports a universal screening approach. *Hum Pathol.* 2013;44(11):2518-28.
- (339). Arends MJ. Pathways of colorectal carcinogenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2013;21(2):97-102.
- (340). Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology.* 2010;138(6):2044-58.
- (341). Mueller-Koch Y, Vogelsang H, Kopp R, Lohse P, Keller G, Aust D, et al. Hereditary non-polyposis colorectal cancer: clinical and molecular evidence for a new entity of hereditary colorectal cancer. *Gut.* 2005;54(12):1733-40.
- (342). Cai SJ, Xu Y, Cai GX, Lian P, Guan ZQ, Mo SJ, et al. Clinical characteristics and diagnosis of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2003;9(2):284-7.
- (343). Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2010;138(6):2073-2087.

- (344). Román R, Verdú M, Calvo M, Vidal A, Sanjuan X, Jimeno M, et al. Microsatellite instability of the colorectal carcinoma can be predicted in the conventional pathologic examination. A prospective multicentric study and the statistical analysis of 615 cases consolidate our previously proposed logistic regression model. *Virchows Arch*. 2010;456(5):533-41.
- (345). Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med*. 2003;138(7):560-70.
- (346). Sankila R, Aaltonen LA, Järvinen HJ, Mecklin JP. Better survival rates in patients with MLH1-associated hereditary colorectal cancer. *Gastroenterology*. 1996;110(3):682-7.
- (347). da Silva FC, de Oliveira LP, Santos EM, Nakagawa WT, Aguiar Junior S, Valentin MD, et al. Frequency of extracolonic tumors in Brazilian families with Lynch syndrome: analysis of a hereditary colorectal cancer institutional registry. *Fam Cancer*. 2010;9(4):563-70.
- (348). Barrow E, Robinson L, Alduaij W, Shenton A, Clancy T, Lalloo F, et al. Cumulative lifetime incidence of extracolonic cancers in Lynch syndrome: a report of 121 families with proven mutations. *Clin Genet*. 2009;75(2):141-9.
- (349). Hadley DW, Jenkins JF, Steinberg SM, Liewehr D, Moller S, Martin JC, et al. Perceptions of cancer risks and predictors of colon and endometrial cancer screening in women undergoing genetic testing for Lynch syndrome. *J Clin Oncol*. 2008;26(6):948-54.
- (350). Watson P, Lynch HT. Extracolonic cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer*. 1993;71(3):677-85.

- (351). Lucci S, Pasta V, Arcieri S, Rivolta R, Candioli S, Manigrasso A, et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome): a review of the literature and case reports. *G Chir.* 2000;21(4):177-87.
- (352). Emery J, Barlow-Stewart K, Metcalfe SA. There's cancer in the family. *Aust Fam Physician.* 2009;38(4):194-8.
- (353). Bhajjee F, Brown AS. Muir-Torre syndrome. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(12):1685-9.
- (354). Masuno M. Turcot syndrome. *Ryokibetsu Shokogun Shirizu.* 2001;(34 Pt 2):765-6.
- (355). Gadish T, Tulchinsky H, Deutsch AA, Rabau M. Pinealoblastoma in a patient with familial adenomatous polyposis: variant of Turcot syndrome type 2? Report of a case and review of the literature. *Dis Colon Rectum.* 2005;48(12):2343-6.
- (356). Kleinerman R, Marino J, Loucas E. Muir-Torre Syndrome / Turcot Syndrome overlap? A patient with sebaceous carcinoma, colon cancer, and a malignant astrocytoma. *Dermatol Online J.* 2012;18(5):3.
- (357). Lucci-Cordisco E, Zito I, Gensini F, Genuardi M. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer and related conditions. *Am J Med Genet A.* 2003;122A(4):325-34.
- (358). Manceau G, Karoui M, Charachon A, Delchier JC, Sobhani I. HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer) or Lynch syndrome: a syndrome related to a failure of DNA repair system. *Bull Cancer.* 2011;98(3):323-36.
- (359). Burn J, Mathers J, Bishop DT. Lynch syndrome: history, causes, diagnosis, treatment and prevention (CAPP2 trial). *Dig Dis.* 2012;30 Suppl 2:39-47.

- (360). Fedier A, Fink D. Mutations in DNA mismatch repair genes: implications for DNA damage signaling and drug sensitivity (review). *Int J Oncol*. 2004;24(4):1039-47.
- (361). Peltomäki P. Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21(6):1174-9.
- (362). Silva FC, Valentin MD, Ferreira Fde O, Carraro DM, Rossi BM. Mismatch repair genes in Lynch syndrome: a review. *Sao Paulo Med J*. 2009;127(1):46-51.
- (363). Peltomäki P. Lynch syndrome genes. *Fam Cancer*. 2005;4(3):227-32.
- (364). Kow YW, Bao G, Reeves JW, Jinks-Robertson S, Crouse GF. Oligonucleotide transformation of yeast reveals mismatch repair complexes to be differentially active on DNA replication strands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(27):11352-7.
- (365). Drummond JT. Genomic amplification of the human DHFR/MSH3 locus remodels mismatch recognition and repair activities. *Adv Enzyme Regul*. 1999;39:129-41.
- (366). Guarinos C, Castillejo A, Barberá VM, Pérez-Carbonell L, Sánchez-Heras AB, Segura A, et al. EPCAM germ line deletions as causes of Lynch syndrome in Spanish patients. *J Mol Diagn*. 2010;12(6):765-70.
- (367). Pérez-Cabornero L, Infante Sanz M, Velasco Sampedro E, Lastra Aras E, Acedo Becares A, Miner Pino C, et al. Frequency of rearrangements in Lynch syndrome cases associated with MSH2: characterization of a new deletion involving both EPCAM and the 5' part of MSH2. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2011;4(10):1556-62.

- (368). Kwok CT, Ward RL, Hawkins NJ, Hitchins MP. Detection of allelic imbalance in MLH1 expression by pyrosequencing serves as a tool for the identification of germline defects in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2010;9(3):345-56.
- (369). Ollikainen M, Hannelius U, Lindgren CM, Abdel-Rahman WM, Kere J, Peltomäki P. Mechanisms of inactivation of MLH1 in hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma: a novel approach. *Oncogene*. 2007;26(31):4541-9.
- (370). Yuen ST, Chan TL, Ho JW, Chan AS, Chung LP, Lam PW, et al. Germline, somatic and epigenetic events underlying mismatch repair deficiency in colorectal and HNPCC-related cancers. *Oncogene*. 2002;21(49):7585-92.
- (371). Wu Y, Berends MJ, Post JG, Mensink RG, Verlind E, Van Der Sluis T, et al. Germline mutations of EXO1 gene in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) and atypical HNPCC forms. *Gastroenterology*. 2001;120(7):1580-7.
- (372). Gonda K, Nomizu T, Fukayama N, Sugano K, Takenosita S. A novel germline mutation of hMLH1 in a patient with hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2002;32(6):215-8.
- (373). Alhopuro P, Sammalkorpi H, Niittymäki I, Biström M, Raitila A, Saharinen J, et al. Candidate driver genes in microsatellite-unstable colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2012;130(7):1558-66.
- (374). Veigl ML, Kasturi L, Olechnowicz J, Ma AH, Lutterbaugh JD, Periyasamy S, et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel

- mechanism causing human IMS cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(15):8698-702.
- (375). Bougeard G, Olivier-Faivre L, Baert-Desurmont S, Tinat J, Martin C, Bouvignies E, et al. Diversity of the clinical presentation of the MMR gene biallelic mutations. *Fam Cancer*. 2014;13(1):131-5.
- (376). Auclair J, Leroux D, Desseigne F, Lasset C, Saurin JC, Joly MO, et al. Novel biallelic mutations in MSH6 and PMS2 genes: gene conversion as a likely cause of PMS2 gene inactivation. *Hum Mutat*. 2007;28(11):1084-90.
- (377). Blanes A, Diaz-Cano SJ. Complementary analysis of microsatellite tumor profile and mismatch repair defects in colorectal carcinomas. *World J Gastroenterol*. 2006;12(37):5932-40.
- (378). Vaish M, Mittal B. DNA mismatch repair, microsatellite instability and cancer. *Indian J Exp Biol*. 2002;40(9):989-94.
- (379). Shibata D. When does MMR loss occur during HNPCC progression? *Cancer Biomark*. 2006;2(1-2):29-35.
- (380). Shen XS, Zhao B, Wang ZJ. Clinical features and hMSH2/hMLH1 germ-line mutations in Chinese patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Chin Med J (Engl)*. 2008;121(14):1265-8.
- (381). Baglietto L, Lindor NM, Dowty JG, White DM, Wagner A, Gomez Garcia EB, et al. Risks of Lynch syndrome cancers for MSH6 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(3):193-201.
- (382). Kets CM1, van Krieken JH, Hebeda KM, Wezenberg SJ, Goossens M, Brunner HG, et al. Very low prevalence of germline MSH6 mutations in

- hereditary non-polyposis colorectal cancer suspected patients with colorectal cancer without microsatellite instability. *Br J Cancer*. 2006;95(12):1678-82.
- (383). Pande M, Wei C, Chen J, Amos CI, Lynch PM, Lu KH, et al. Cancer spectrum in DNA mismatch repair gene mutation carriers: results from a hospital based Lynch syndrome registry. *Fam Cancer*. 2012;11(3):441-7.
- (384). Sheng X, Zhou HH, Zhou XY, Du X, Zhang TM, Cai SJ, et al. Germline mutation analysis of hPMS2 gene in Chinese families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2010;16(30):3847-52.
- (385). Niessen RC, Kleibeuker JH, Westers H, Jager PO, Rozeveld D, Bos KK, et al. PMS2 involvement in patients suspected of Lynch syndrome. *Genes Chromosomes Cancer*. 2009;48(4):322-9.
- (386). Tuttlewska K, Lubinski J, Kurzawski G. Germline deletions in the EPCAM gene as a cause of Lynch syndrome - literature review. *Hered Cancer Clin Pract*. 2013;11(1):9.
- (387). Pérez-Cabornero L1, Infante Sanz M, Velasco Sampedro E, Lastra Aras E, Acedo Becares A, Miner Pino C, et al. Frequency of rearrangements in Lynch syndrome cases associated with MSH2: characterization of a new deletion involving both EPCAM and the 5' part of MSH2. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2011;4(10):1556-62.
- (388). Kastrinos F, Steyerberg EW, Mercado R, Balmaña J, Holter S, Gallinger S, et al. The PREMM(1,2,6) model predicts risk of MLH1, MSH2, and MSH6 germline mutations based on cancer history. *Gastroenterology*. 2011;140(1):73-81.

- (389). Cyr JL, Brown GD, Stroop J, Heinen CD. The predicted truncation from a cancer-associated variant of the MSH2 initiation codon alters activity of the MSH2-MSH6 mismatch repair complex. *Mol Carcinog*. 2012;51(8):647-58.
- (390). Kastrinos F, Stoffel EM, Balmaña J, Steyerberg EW, Mercado R, Syngal S. Phenotype comparison of MLH1 and MSH2 mutation carriers in a cohort of 1,914 individuals undergoing clinical genetic testing in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(8):2044-51.
- (391). Akoum R, Ghaoui A, Brihi E, Ghabash M, Abou Atme J. Gynecological tumors revealing hereditary nonpolyposis colorectal cancer: analysis of a large Lebanese pedigree. *Int J Gynecol Cancer*. 2006;16(4):1516-21.
- (392). Lage PA, Albuquerque C, Sousa RG, Cravo ML, Salazar M, Francisco I, et al. Association of colonic and endometrial carcinomas in Portuguese families with hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma significantly increases the probability of detecting a pathogenic mutation in mismatch repair genes, primarily the MSH2 gene. *Cancer*. 2004;101(1):172-7.
- (393). Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vaury C, Furlan D, Leroy K, et al. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology*. 2002;123(6):1804-11.
- (394). Patil DT, Bronner MP, Portier BP, Fraser CR, Plesec TP, Liu X. A five-marker panel in a multiplex PCR accurately detects microsatellite instability-high colorectal tumors without control DNA. *Diagn Mol Pathol*. 2012;21(3):127-33.

- (395). Goel A, Nagasaka T, Hamelin R, Boland CR. An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers. *PLoS One*. 2010;5(2):e9393.
- (396). Sutter C, Gebert J, Bischoff P, Herfarth C, von Knebel Doeberitz M. Molecular screening of potential HNPCC patients using a multiplex microsatellite PCR system. *Mol Cell Probes*. 1999;13(2):157-65.
- (397). Mueller J, Gazzoli I, Bandipalliam P, Garber JE, Syngal S, Kolodner RD. Comprehensive molecular analysis of mismatch repair gene defects in suspected Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) cases. *Cancer Res*. 2009;69(17):7053-61.
- (398). Marcus VA, Madlensky L, Gryfe R, Kim H, So K, Millar A, et al. Immunohistochemistry for hMLH1 and hMSH2: a practical test for DNA mismatch repair-deficient tumors. *Am J Surg Pathol*. 1999;23(10):1248-55.
- (399). Berginc G, Bracko M, Ravnik-Glavac M, Glavac D. Screening for germline mutations of MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 genes in Slovenian colorectal cancer patients: implications for a population specific detection strategy of Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2009;8(4):421-9.
- (400). Pistorius S, Görgens H, Plaschke J, Hoehl R, Krüger S, Engel C, et al. Genomic rearrangements in MSH2, MLH1 or MSH6 are rare in HNPCC patients carrying point mutations. *Cancer Lett*. 2007;248(1):89-95.
- (401). Grabowski M, Mueller-Koch Y, Grasbon-Frodl E, Koehler U, Keller G, Vogelsang H, et al. Deletions account for 17% of pathogenic germline alterations in MLH1 and MSH2 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) families. *Genet Test*. 2005;9(2):138-46.

- (402). de Jong AE, van Puijenbroek M, Hendriks Y, Tops C, Wijnen J, Ausems MG, et al. Microsatellite instability, immunohistochemistry, and additional PMS2 staining in suspected hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10(3):972-80.
- (403). Amira AT, Mouna T, Ahlem B, Raoudha A, Majid BH, Amel H, et al. Immunohistochemical expression pattern of MMR protein can specifically identify patients with colorectal cancer microsatellite instability. *Tumour Biol.* 2014;35(7):6283-91.
- (404). Brazowski E, Rozen P, Pel S, Samuel Z, Solar I, Rosner G. Can a gastrointestinal pathologist identify microsatellite instability in colorectal cancer with reproducibility and a high degree of specificity? *Fam Cancer.* 2012;11(2):249-57.
- (405). Kievit W, de Bruin JH, Adang EM, Ligtenberg MJ, Nagengast FM, van Krieken JH, et al. Current clinical selection strategies for identification of hereditary non-polyposis colorectal cancer families are inadequate: a meta-analysis. *Clin Genet.* 2004;65(4):308-16.
- (406). Bécouarn Y, Rullier A, Gorry P, Smith D, Richard-Molard B, Echinard E, et al. Value of microsatellite instability typing in detecting hereditary non-polyposis colorectal cancer. A prospective multicentric study by the Association Aquitaine Gastro. *Gastroenterol Clin Biol.* 2005;29(6-7):667-75.
- (407). Bonis PA, Trikalinos TA, Chung M, Chew P, Ip S, DeVine DA, et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: diagnostic strategies and their implications. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep).* 2007;(150):1-180.

- (408). Poulogiannis G, Frayling IM, Arends MJ. DNA mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Histopathology*. 2010;56(2):167-79.
- (409). Imai K, Yamamoto H. Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics. *Carcinogenesis*. 2008;29(4):673-80.
- (410). Bettstetter M, Dechant S, Ruemmele P, Grabowski M, Keller G, Holinski-Feder E, et al. Distinction of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and sporadic microsatellite-unstable colorectal cancer through quantification of MLH1 methylation by real-time PCR. *Clin Cancer Res*. 2007;13(11):3221-8.
- (411). Miyakura Y, Tahara M, Lefor AT, Yasuda Y, Sugano K. Haplotype defined by the MLH1-93G/A polymorphism is associated with MLH1 promoter hypermethylation in sporadic colorectal cancers. *BMC Res Notes*. 2014;7:835.
- (412). Niv Y. Microsatellite instability and MLH1 promoter hypermethylation in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2007;13(12):1767-9.
- (413). Liu X, Cao Y, Wang C, Cao R, Chen X, Ding J, et al. Screening for Lynch syndrome in colorectal cancer. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2014;43(6):394-8.
- (414). Pai RK, Shadrach BL, Carver P, Heald B, Moline J, Church J, et al. Immunohistochemistry for annexin A10 can distinguish sporadic from Lynch syndrome-associated microsatellite-unstable colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(4):518-25.

- (415). Domingo E, Laiho P, Ollikainen M, Pinto M, Wang L, French AJ, et al. BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. *J Med Genet.* 2004;41(9):664-8.
- (416). Kim SJ, Kim HR, Kim SH, Han JH, Cho YB, Yun SH, et al. hMLH1 promoter methylation and BRAF mutations in high-frequency microsatellite instability colorectal cancers not fulfilling the revised Bethesda guidelines. *Ann Surg Treat Res.* 2014;87(3):123-30.
- (417). Brim H, Mokarram P, Naghibalhossaini F, Saberi-Firoozi M, Al-Mandhari M, Al-Mawaly K, et al. Impact of BRAF, MLH1 on the incidence of microsatellite instability high colorectal cancer in populations based study. *Mol Cancer.* 2008;7:68.
- (418). Kloor M. Pathogenesis of microsatellite-unstable colorectal cancer. Evaluation of new diagnostic and therapeutic options. *Pathologe.* 2013;34 Suppl 2:277-81.
- (419). Buckowitz A, Knaebel HP, Benner A, Bläker H, Gebert J, Kienle P, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer is associated with local lymphocyte infiltration and low frequency of distant metastases. *Br J Cancer.* 2005;92(9):1746-53.
- (420). Jenkins MA, Hayashi S, O'Shea AM, Burgart LJ, Smyrk TC, Shimizu D, et al.; Colon Cancer Family Registry. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. *Gastroenterology.* 2007;133(1):48-56.

- (421). Alexander J, Watanabe T, Wu TT, Rashid A, Li S, Hamilton SR. Histopathological identification of colon cancer with microsatellite instability. *Am J Pathol*. 2001;158(2):527-35.
- (422). Buchanan DD, Rosty C, Clendenning M, Spurdle AB, Win AK. Clinical problems of colorectal cancer and endometrial cancer cases with unknown cause of tumor mismatch repair deficiency (suspected Lynch syndrome). *Appl Clin Genet*. 2014;7:183-93.
- (423). Plotz G, Zeuzem S, Raedle J. DNA mismatch repair and Lynch syndrome. *J Mol Histol*. 2006;37(5-7):271-83.
- (424). Zigelboim I, Powell MA, Babb SA, Whelan AJ, Schmidt AP, Clendenning M, et al. Epitope-positive truncating MLH1 mutation and loss of PMS2: implications for IHC-directed genetic testing for Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2009;8(4):501-4.
- (425). Hagen CE, Lefferts J, Hornick JL, Srivastava A. “Null pattern” of immunoreactivity in a Lynch syndrome-associated colon cancer due to germline MSH2 mutation and somatic MLH1 hypermethylation. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(12):1902-5.
- (426). Barrow E, Jagger E, Brierley J, Wallace A, Evans G, Hill J, et al. Semiquantitative assessment of immunohistochemistry for mismatch repair proteins in Lynch syndrome. *Histopathology*. 2010;56(3):331-44.
- (427). Shia J, Tang LH, Vakiani E, Guillem JG, Stadler ZK, Soslow RA, et al. Immunohistochemistry as first-line screening for detecting colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: a 2-

- antibody panel may be as predictive as a 4-antibody panel. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(11):1639-45.
- (428). Shia J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn*. 2008;10(4):293-300.
- (429). Engel C, Forberg J, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Plaschke J, Kloor M, et al.; German HNPCC Consortium. Novel strategy for optimal sequential application of clinical criteria, immunohistochemistry and microsatellite analysis in the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2006;118(1):115-22.
- (430). Modica I, Soslow RA, Black D, Tornos C, Kauff N, Shia J. Utility of immunohistochemistry in predicting microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(5):744-51.
- (431). Resnick KE, Hampel H, Fishel R, Cohn DE. Current and emerging trends in Lynch syndrome identification in women with endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2009;114(1):128-34.
- (432). Kalloger SE, Allo G, Mulligan AM, Pollett A, Aronson M, Gallinger S, et al. Use of mismatch repair immunohistochemistry and microsatellite instability testing: exploring Canadian practices. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(4):560-9.
- (433). Bonnet D, Selves J, Toulas C, Danjoux M, Duffas JP, Portier G, et al. Simplified identification of Lynch syndrome: a prospective, multicenter study. *Dig Liver Dis*. 2012;44(6):515-22.

- (434). McConechy MK, Talhouk A, Li-Chang HH, Leung S, Huntsman DG, Gilks CB, et al. Detection of DNA mismatch repair (MMR) deficiencies by immunohistochemistry can effectively diagnose the microsatellite instability (IMS) phenotype in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol*. 2015; En prensa.
- (435). Djordjevic B, Broaddus RR. Role of the clinical pathology laboratory in the evaluation of endometrial carcinomas for Lynch syndrome. *Semin Diagn Pathol*. 2014;31(3):195-204.
- (436). Syngal S, Fox EA, Eng C, Kolodner RD, Garber JE. Sensitivity and specificity of clinical criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer associated mutations in MSH2 and MLH1. *J Med Genet*. 2000;37(9):641-5.
- (437). Wolf B, Gruber S, Henglmüller S, Kappel S, Bergmann M, Wrba F, et al. Efficiency of the revised Bethesda guidelines (2003) for the detection of mutations in mismatch repair genes in Austrian HNPCC patients. *Int J Cancer*. 2006;118(6):1465-70.
- (438). Leggett BA. Family-based screening for colorectal cancer: The Australian perspective. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24 Suppl 3:S29-32.
- (439). Khan O, Blanco A, Conrad P, Gulden C, Moss TZ, Olopade OI, et al. Performance of Lynch syndrome predictive models in a multi-center US referral population. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(10):1822-7.
- (440). Kastrinos F, Balmaña J, Syngal S. Prediction models in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2013;12(2):217-28.

- (441). Bleiker EM, Esplen MJ, Meiser B, Petersen HV, Patenaude AF. 100 years
Lynch syndrome: what have we learned about psychosocial issues? *Fam
Cancer*. 2013;12(2):325-39.
- (442). Vasen HF, Mecklin JP, Watson P, Utsunomiya J, Bertario L, Lynch P, et al.
Surveillance in hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an international
cooperative study of 165 families. The International Collaborative Group on
HNPCC. *Dis Colon Rectum*. 1993;36(1):1-4.
- (443). Park JG, Vasen HF, Park KJ, Peltomaki P, Ponz de Leon M, Rodriguez-Bigas
MA, et al. Suspected hereditary nonpolyposis colorectal cancer: International
Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-
HNPCC) criteria and results of genetic diagnosis. *Dis Colon Rectum*.
1999;42(6):710-5.
- (444). Wang J, Luo MH, Zhang ZX, Zhang PD, Jiang XL, Ma DW, et al. Clinical
and molecular analysis of hereditary non-polyposis colorectal cancer in
Chinese colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2007;13(10):1612-
7.
- (445). Olschwang S, Bonaïti C, Feingold J, Frébourg T, Grandjouan S, Lasset C, et
al. Identification and management of HNPCC syndrome (hereditary non
polyposis colon cancer), hereditary predisposition to colorectal and
endometrial adenocarcinomas. *Bull Cancer*. 2004;91(4):303-15.
- (446). Tranø G, Sjursen W, Wasmuth HH, Hofslø E, Vatten LJ. Performance of
clinical guidelines compared with molecular tumour screening methods in
identifying possible Lynch syndrome among colorectal cancer patients: a
Norwegian population-based study. *Br J Cancer*. 2010;102(3):482-8.

- (447). Lynch HT, Smyrk T, Lynch JF. Molecular genetics and clinical-pathology features of hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (Lynch syndrome): historical journey from pedigree anecdote to molecular genetic confirmation. *Oncology*. 1998;55(2):103-8.
- (448). Abdel-Rahman WM¹, Peltomäki P. Lynch syndrome and related familial colorectal cancers. *Crit Rev Oncog*. 2008;14(1):1-22.
- (449). Yamaguchi T, Furukawa Y, Nakamura Y, Matsubara N, Ishikawa H, Arai M, et al.; for HNPCC Registry and Genetic Testing Project of the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Comparison of clinical features between suspected familial colorectal cancer type X and Lynch syndrome in Japanese patients with colorectal cancer: a cross-sectional study conducted by the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. *Jpn J Clin Oncol*. 2015;45(2):153-9.
- (450). Shiovitz S, Copeland WK, Passarelli MN, Burnett-Hartman AN, Grady WM, Potter JD, et al.; Colon Cancer Family Registry. Characterisation of familial colorectal cancer Type X, Lynch syndrome, and non-familial colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2014;111(3):598-602.
- (451). Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, et al. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89(23):1758-62.
- (452). Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer

- (Lynch syndrome) and microsatellite instability. J Natl Cancer Inst. 2004;96(4):261-8.
- (453). Gologan A, Krasinskas A, Hunt J, Thull DL, Farkas L, Sepulveda AR. Performance of the revised Bethesda guidelines for identification of colorectal carcinomas with a high level of microsatellite instability. Arch Pathol Lab Med. 2005;129(11):1390-7.
- (454). Piñol V, Castells A, Andreu M, Castellví-Bel S, Alenda C, Llor X, et al.; Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. JAMA. 2005;293(16):1986-94.
- (455). Rodríguez-Moranta F, Castells A, Andreu M, Piñol V, Castellví-Bel S, Alenda C, et al.; Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. Clinical performance of original and revised Bethesda guidelines for the identification of MSH2/MLH1 gene carriers in patients with newly diagnosed colorectal cancer: proposal of a new and simpler set of recommendations. Am J Gastroenterol. 2006;101(5):1104-11.
- (456). Hernández Sampieri R, Fernández-Collado C, Baptista-Lucio P. Metodología de la investigación. 4ª ed. México: McGraw-Hill; 2004.
- (457). Sirvent MT. Los diferentes modos de operar en investigación social. Buenos Aires: Cuadernillos de cátedra, Universidad de Buenos Aires; 1998.
- (458). Sirvent MT. El proceso de la investigación. Buenos Aires: Cuadernillos de cátedra, Universidad de la Marina Mercante; 2003.

- (459). Simon R, Mirlacher M, Sauter G. Tissue microarrays in cancer diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2003;3(4):421-30.
- (460). Simon R, Mirlacher M, Sauter G. Tissue microarrays. *Biotechniques.* 2004;36(1):98-105.
- (461). Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Costa J, Olsen DA, Reiss M. Tissue microarray: a new technology for amplification of tissue resources. *Cancer J.* 2001;7(1):24-31.
- (462). Moch H, Kononen T, Kallioniemi OP, Sauter G. Tissue microarrays: what will they bring to molecular and anatomic pathology? *Adv Anat Pathol.* 2001;8(1):14-20.
- (463). van de Rijn M, Gilks CB. Applications of microarrays to histopathology. *Histopathology.* 2004;44(2):97-108.
- (464). Alkhas A, Hood BL, Oliver K, Teng PN, Oliver J, Mitchell D, et al. Standardization of a sample preparation and analytical workflow for proteomics of archival endometrial cancer tissue. *J Proteome Res.* 2011;10(11):5264-71.
- (465). Norton JA. Neuroendocrine tumors of the pancreas and duodenum. *Curr Probl Surg.* 1994;31(2):77-156.
- (466). Meléndez Minobis M, Dujarric Martínez MD, Castellano Benítez O, Posada García A, Ponce de León O, González Griego A. Evaluación de la inmunohistoquímica para el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2004;23(3):133-8.
- (467). Fritzler MJ. Autoantibodies: diagnostic fingerprints and etiologic perplexities. *Clin Invest Med.* 1997;20(1):50-66.

- (468). Pérez-Medina T, San Frutos L, Bajo Arenas JM. Carcinoma del cuerpo uterino. En: Bajo Arenas JM, Lailla Vicens JM, Xercavins Montosa J, editores. Fundamentos de Ginecología (SEGO). SEGO: Madrid; 2009. p. 403-19.
- (469). Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J R Statist Soc B*. 1995;57(1):289-300.
- (470). Cook LS, Nelson HE, Stidley CA, Dong Y, Round PJ, Amankwah EK, et al. Endometrial cancer and a family history of cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;130(2):334-9.
- (471). Obermair A, Youlden DR, Young JP, Lindor NM, Baron JA, Newcomb P, et al. Risk of endometrial cancer for women diagnosed with HNPCC-related colorectal carcinoma. *Int J Cancer*. 2010;127(11):2678-84.
- (472). Garg K, Leitao MM Jr, Kauff ND, Hansen J, Kosarin K, Shia J, et al. Selection of endometrial carcinomas for DNA mismatch repair protein immunohistochemistry using patient age and tumor morphology enhances detection of mismatch repair abnormalities. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(6):925-33.
- (473). Schneider R, Fürst A, Möslin G. Lynch syndrome—epidemiology, clinical features, molecular genetics, screening, therapy. *Z Gastroenterol*. 2012;50(2):217-25.
- (474). Zauber NP, Denehy TR, Taylor RR, Ongcapin EH, Marotta SP, Sabbath-Solitare M, et al. Microsatellite instability and DNA methylation of

- endometrial tumors and clinical features in young women compared with older women. *Int J Gynecol Cancer*. 2010;20(9):1549-56.
- (475). Buttin BM, Powell MA, Mutch DG, Rader JS, Herzog TJ, Gibb RK, et al. Increased risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer-associated synchronous and metachronous malignancies in patients with microsatellite instability-positive endometrial carcinoma lacking MLH1 promoter methylation. *Clin Cancer Res*. 2004;10(2):481-90.
- (476). Stoffel E, Mukherjee B, Raymond VM, Tayob N, Kastrinos F, Sparr J, et al. Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. *Gastroenterology*. 2009;137(5):1621-7.
- (477). Mills AM, Liou S, Ford JM, Berek JS, Pai RK, Longacre TA. Lynch syndrome screening should be considered for all patients with newly diagnosed endometrial cancer. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(11):1501-9.
- (478). Garg K, Soslow RA. Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer) and endometrial carcinoma. *J Clin Pathol*. 2009;62(8):679-84.
- (479). Halvarsson B, Müller W, Planck M, Benoni AC, Mangell P, Ottosson J, et al. Phenotypic heterogeneity in hereditary non-polyposis colorectal cancer: identical germline mutations associated with variable tumour morphology and immunohistochemical expression. *J Clin Pathol*. 2007;60(7):781-6.
- (480). Garg K, Shih K, Barakat R, Zhou Q, Iasonos A, Soslow RA. Endometrial carcinomas in women aged 40 years and younger: tumors associated with loss of DNA mismatch repair proteins comprise a distinct clinicopathologic subset. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(12):1869-77.

- (481). de Jong RA, Leffers N, Boezen HM, ten Hoor KA, van der Zee AG, Hollema H, et al. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2009;114(1):105-10.
- (482). Brunner A, Hinterholzer S, Riss P, Heinze G, Brustmann H. Immunoexpression of B7-H3 in endometrial cancer: relation to tumor T-cell infiltration and prognosis. *Gynecol Oncol.* 2012;124(1):105-11.
- (483). van den Bos M, van den Hoven M, Jongejan E, van der Leij F, Michels M, Schakenraad S, et al. More differences between HNPCC-related and sporadic carcinomas from the endometrium as compared to the colon. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(6):706-11.
- (484). Daniels MS, Urbauer DL, Zangeneh A, Batte BA, Dempsey KM, Lu KH. Outcomes of screening endometrial cancer patients for Lynch syndrome by patient-administered checklist. *Gynecol Oncol.* 2013;131(3):619-23.
- (485). Scheuner MT, McNeel TS, Freedman AN. Population prevalence of familial cancer and common hereditary cancer syndromes. The 2005 California Health Interview Survey. *Genet Med.* 2010;12(11):726-35.
- (486). Domanska K, Nilbert M, Soller M, Silfverberg B, Carlsson C. Discrepancies between estimated and perceived risk of cancer among individuals with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Genet Test.* 2007;11(2):183-6.
- (487). Joehlin-Price AS, Perrino CM, Stephens J, Backes FJ, Goodfellow PJ, Cohn DE, et al. Mismatch repair protein expression in 1049 endometrial carcinomas, associations with body mass index, and other clinicopathologic variables. *Gynecol Oncol.* 2014;133(1):43-7.

- (488). McCourt CK, Mutch DG, Gibb RK, Rader JS, Goodfellow PJ, Trinkaus K, et al. Body mass index: relationship to clinical, pathologic and features of microsatellite instability in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2007;104(3):535-9.
- (489). Karamurzin Y, Soslow RA, Garg K. Histologic evaluation of prophylactic hysterectomy and oophorectomy in Lynch syndrome. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(4):579-85.
- (490). Wu HX, Song JC, Shi YQ, Liu YX. Expression of MMR in endometrial adenocarcinoma in women under 50 years old. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2012;41(11):733-6.
- (491). Broaddus RR, Lynch HT, Chen LM, Daniels MS, Conrad P, Munsell MF, et al. Pathologic features of endometrial carcinoma associated with HNPCC: a comparison with sporadic endometrial carcinoma. *Cancer.* 2006;106(1):87-94.
- (492). Shih KK, Garg K, Levine DA, Kauff ND, Abu-Rustum NR, Soslow RA, et al. Clinicopathologic significance of DNA mismatch repair protein defects and endometrial cancer in women 40years of age and younger. *Gynecol Oncol.* 2011;123(1):88-94.
- (493). Ring KL, Connor EV, Atkins KA, Ricketts W, Kashlan B, Modesitt SC. Women 50 years or younger with endometrial cancer: the argument for universal mismatch repair screening and potential for targeted therapeutics. *Int J Gynecol Cancer.* 2013;23(5):853-60.
- (494). Carcangiu ML, Radice P, Casalini P, Bertario L, Merola M, Sala P. Lynch syndrome—related endometrial carcinomas show a high frequency of

- nonendometrioid types and of high FIGO grade endometrioid types. *Int J Surg Pathol*. 2010;18(1):21-6.
- (495). Shia J, Black D, Hummer AJ, Boyd J, Soslow RA. Routinely assessed morphological features correlate with microsatellite instability status in endometrial cancer. *Hum Pathol*. 2008;39(1):116-25.
- (496). Bischoff J, Ignatov A, Semczuk A, Schwarzenau C, Ignatov T, Krebs T, et al. hMLH1 promoter hypermethylation and IMS status in human endometrial carcinomas with and without metastases. *Clin Exp Metastasis*. 2012;29(8):889-900.
- (497). Cote ML, Kam A, Chang CY, Raskin L, Reding KW, Cho KR, et al. A pilot study of microsatellite instability and endometrial cancer survival in white and African American women. *Int J Gynecol Pathol*. 2012;31(1):66-72.
- (498). Steinbakk A, Malpica A, Sleva A, Gudlaugsson E, Janssen EA, Arends M, et al. High frequency microsatellite instability has a prognostic value in endometrial endometrioid adenocarcinoma, but only in FIGO stage 1 cases. *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2010;33(5):245-55.
- (499). Konopka B, Janiec-Jankowska A, Czapczak D, Paszko Z, Bidziński M, Olszewski W, et al. Molecular genetic defects in endometrial carcinomas: microsatellite instability, PTEN and beta-catenin (CTNNB1) genes mutations. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2007;133(6):361-71.
- (500). Black D, Soslow RA, Levine DA, Tornos C, Chen SC, Hummer AJ, et al. Clinicopathologic significance of defective DNA mismatch repair in endometrial carcinoma. *J Clin Oncol*. 2006;24(11):1745-53.

- (501). Yeramian A, Moreno-Bueno G, Dolcet X, Catusus L, Abal M, Colas E, et al. Endometrial carcinoma: molecular alterations involved in tumor development and progression. *Oncogene*. 2013;32(4):403-13.
- (502). Shannon C, Kirk J, Barnetson R, Evans J, Schnitzler M, Quinn M, et al. Incidence of microsatellite instability in synchronous tumors of the ovary and endometrium. *Clin Cancer Res*. 2003;9(4):1387-92.
- (503). Aysal A, Karnezis A, Medhi I, Grenert JP, Zaloudek CJ, Rabban JT. Ovarian endometrioid adenocarcinoma: incidence and clinical significance of the morphologic and immunohistochemical markers of mismatch repair protein defects and tumor microsatellite instability. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(2):163-72.
- (504). Karamurzin Y, Rutgers JK. DNA mismatch repair deficiency in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2009;28(3):239-55.
- (505). Chen S, Wang W, Lee S, Nafa K, Lee J, Romans K, et al; Colon Cancer Family Registry. Prediction of germline mutations and cancer risk in the Lynch syndrome. *JAMA*. 2006;296(12):1479-87.
- (506). Hoogerbrugge N, Willems R, Van Krieken HJ, Kiemeneys LA, Weijmans M, Nagengast FM, et al. Very low incidence of microsatellite instability in rectal cancers from families at risk for HNPCC. *Clin Genet*. 2003;63(1):64-70.
- (507). Evans DG, Walsh S, Hill J, McMahon RT. Strategies for identifying hereditary nonpolyposis colon cancer. *Semin Oncol*. 2007;34(5):411-7.
- (508). Risinger JI, Maxwell GL, Chandramouli GV, Jazaeri A, Aprelikova O, Patterson T, et al. Microarray analysis reveals distinct gene expression

- profiles among different histologic types of endometrial cancer. *Cancer Res.* 2003;63(1):6-11.
- (509). Clarke BA, Gilks CB. Endometrial carcinoma: controversies in histopathological assessment of grade and tumour cell type. *J Clin Pathol.* 2010;63(5):410-5.
- (510). Horn LC, Meinel A, Handzel R, Eibenkel J. Histopathology of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma: an update. *Ann Diagn Pathol.* 2007;11(4):297-311.
- (511). Yan HL, Hao LQ, Jin HY, Xing QH, Xue G, Mei Q, et al. Clinical features and mismatch repair genes analyses of Chinese suspected hereditary non-polyposis colorectal cancer: a cost-effective screening strategy proposal. *Cancer Sci.* 2008;99(4):770-80.
- (512). Goldberg Y, Porat R, Sagi M, Eilat A, Kedar I, Shochat C, et al. A new oncogenetic service of counseling and diagnosing for hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC). *Harefuah.* 2007;146(7):510-4, 576, 575.
- (513). Müller H, Dobbie Z, Heinemann K. Identification and genetic counseling of people with HNPCC (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): old and new research goals. *Schweiz Med Wochenschr.* 1999;129(50):1978-85.